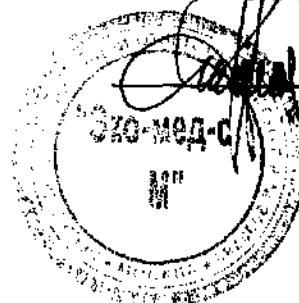


«Утверждаю»

Генеральный директор
ООО «Эко-мед-с М»



Ворошилов Н.А.
«26» апреля 2010г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Панели для работы на микробиологических анализаторах типа Walkaway, Autoscan

1. НАЗНАЧЕНИЕ
2. ОСНОВНЫЕ ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
3. ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ
4. ПОДГОТОВКА К РАБОТЕ ИЗДЕЛИЯ
5. ПОРЯДОК РАБОТЫ ИЗДЕЛИЯ
6. ПРАВИЛА ХРАНЕНИЯ И ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

2010

Руководство по применению панелей для грам-негативных микроорганизмов на анализаторах типа Walkaway, Autoscan

Предназначение

Предназначено для использования с обезвоженными грам-негативными МПК/Комбо панелями MicroScan® и обезвоженными грам-негативными комбо-панелями с точками осветления.

Панели MicroScan® разработаны для определения восприимчивости бактерицидной добавки и/или идентификации уровня разновидностей аэробных и факультативно анаэробных грам-отрицательных бацилл.

Краткие данные

Тесты на антибактериальную восприимчивость являются миниатюризацией теста восприимчивости дегидратированного бульонного раствора. Различные бактерицидные добавки разбавлены в бульоне Мюллер-Хинтона с добавлением кальция и магния до концентрации, представляющей клинический интерес.^{22,32} Комбо-панели с точками осветления используют концентрации, эквивалентные категорическим точкам осветления Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам (НККЛС).^{22,32} Триметоприм, Сульфаметоксазол и комбинация Триметоприма с Сульфаметоксазолом содержат фосфорилазу тимидина для уменьшения уровня тимидина. После прививания организма, регидратации со стандартизированной суспензией и инкубации при 35°C в течение минимум 16 часов минимальная подавляющая концентрация (МПК) для испытуемого организма определяется наблюдением самой низкой антибактериальной концентрации, свидетельствующей о подавлении роста.^{1-6, 8-15, 19, 20, 27-32} Для идентификации бродильных и небродильных грам-отрицательных бацилл используются модифицированные обычные и хромогенические тесты. Идентификация основана на обнаружении изменений pH фактора, использовании субстрата и новообразованиях в присутствии бактерицидных добавок после инкубации в течение 16-42 часов при температуре 35°C.¹⁷⁻¹⁸

Панели, содержащие 1 мкг/мл цефтазидима, азтреонама, цефотаксима или цефтриаксона, или 1 или 4 мкг/мл цефподоксима (в

зависимости от типа панели), могут применяться для анализа на штаммы *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, или *K. pneumoniae*, подозреваемые в производстве бета-лактамаз расширенного спектра (ESBLs).

Меры предосторожности

1. Для диагностического использования только в лабораторных условиях.
2. Соблюдайте асептические методики и установленные предосторожности относительно микробиологических опасностей при всех процедурах. Помните, что привитые панели содержат потенциально патогенные организмы.
3. Перед выбрасыванием все материалы должны быть обработаны в автоклаве.
4. В диагностических и терапевтических целях результаты этого теста должны всегда интерпретироваться в сочетании с данными истории болезни пациента, его клиническими данными и другой сопутствующей информацией.

Хранение

Хранить при температуре 2-25°C, при максимально разрешенном отклонении до 30°C. Средняя ежегодная температура не должна превышать 25°C. Допускаются кратковременные отклонения температуры, если средняя температура хранения при этом не превышает 25°C. Для оценки воздействия температурных отклонений на производительности изделия следует проводить тест контроля качества.

Повреждение изделия

Длительное несоблюдение рекомендуемых условий хранения может привести к потере потенциала бактерицидных добавок. Не используйте изделие после истечения срока годности. Все лунки на панели, кроме локационной, должны быть чистыми перед прививанием.

Забор и Подготовка Образцов

Нужные образцы должны быть собраны, транспортированы и помещены в первичную среду выделения согласно процедурам, рекомендуемым в *Руководстве Клинической Микробиологии*.¹

Процедура

Предоставленные материалы

Информацию о компонентах панели смотрите на ярлыке на упаковке.

Необходимые, но не предоставленные материалы

0.5 Стандарт мутности сульфата барита McFarland

0.5 % N, N-Диметрил-альфа-нафтиламин, 30 мл (B1010-45A) или 250 мл (B1015-45)

0.8% сульфаниловая кислота, 30 мл (B1010-44A) или 250 мл (B1015-44)

Обработанный в автоклаве 0.85 % солевой раствор, 3 мл

10 мкл или 100 мкл пипеттер со сменными стерильными наконечниками или 10мкл калиброванная петля

10%-ое Хлорное железо, 30 мл (B1010-48A) или 250 мл (B1015-48)

40%-ая Гидроокись калий, 30 мл (B1010-43A) или 250 мл (B1015-43)

5%-ый Альфа-нафтол, 10 мл (B1010-42) или 30 мл (B1010-42A)

Brain Heart Infusion (BHI) Бульон, 0.5 мл (B1010-30A) или 4 мл

Покрывающие лотки (B1010-56B)

Стандартное лабораторное оборудование

Набор D-инокулятора (B1013-4)

Инокуляционная вода, 3 мл (B1015-2)

Инокуляционная вода с PLURONIC® *, 25 мл (B1015-7)

Реактив Ковача, 30 мл (B1010-41A) или 250 мл (B1015-41)

Бланки отчетов для МПК (B1014-92) или точек освещения (B1014-47)

Микроразбавительный вывер (B1010-6)

Книга с кодами биотипов грам негативов MicroScan® (B1010-66D)

Минеральное масло, 60 мл (B1010-40)

Минеральное масло, 250 мл - только для Приборов S/ WalkAway® и WalkAway® заглушающей функции (B1010-40A)

Реактив оксидазы

Панельные Рабочие листы (используемые для записи считываемых результатов вручную)

Инокуляционная Система Prompt™** (B1026-10D)

Организмы Контроля качества (Номера по каталогу можно прочитать в разделе Контроль качества этого руководства),

Бланки отчета по контролю качества

Набор пипетки для реактивов (B1013-12A)

RENOK® - Регидратор/Инокулятор (B1018-14) или эквивалентный

Уплотнительные ленты (B1010-51)

Измеритель мутности (B1018-66)

Смеситель

Этикетки со штриховыми кодами Системы WalkAway® (B1011-16)

Крышки лотков WalkAway® (B1018-18)

План Процедуры

А. Подготовка панели

1. Достаньте из контейнеров для хранения панели, которые планируете использовать. Панели не должны использоваться, если

целостность упаковки вызывает сомнение (распечатана, проколота или порвана).

2. Разрежьте пакет и достаньте панель. При хранении в холодильном устройстве сразу же достаньте панель из фольгового мешочка.

3. Панели не должны использоваться, если любое из следующих условий существует:

а. обезвоживатель отсутствует или сломан

б. лунки панели обесцвечены (например, DCB различные бактерицидные вещества)

4. Позвольте панелям достичь комнатной температуры перед регидратацией. Панели могут быть сложены друг на друга при наличии сверху чистого покрывающего лотка. Все открытые панели должны использоваться в течение одного дня, либо выброшены.

В. Подготовка инокулянта

(ПРИМЕЧАНИЕ: См. Ограничения Процедуры, пункты 9 и 10),

НKKЛC рекомендует периодически проверять плотность инокулянта, проводя подсчет колоний. Обращайтесь к документу НKKЛC M7-A6. Ожидаемые результаты для *E. coli* ATCC®25922 должны вплотную приближаться к 5x10CFU/ml.²²

1. Методика стандарта мутности – Основной инокуляционный метод

Методика стандарта мутности рекомендуется для прямого прививания всех аэробных грам-отрицательных бацилл.

а. Используя стерильный деревянный аппликатор или бактериологическую петлю, коснитесь поверхности 4-5ти больших или 5-10ти малых морфологически подобных, хорошо изолированных колоний с 18-24часовых неподавленных агаровых пластин.

б. Эмульгируйте в 3 мл инокуляционной воды (обработанная в автоклаве дистиллированная вода). Конечная мутность должна быть эквивалентной 0.5 Стандарту Мутности сульфата бария Макфарланда. Плотно закройте крышку.

с. Размешивайте суспензию 2-3 секунды.

д. Добавьте пипеткой 0.1 мл (100 мкл) стандартизированной суспензии в 25 мл инокуляционной воды с PLURONIC. Плотно закройте крышку. Проинвертируйте 8-10 раз, чтобы смешать раствор.

2. Быстрый метод

Быстрая методика может использоваться для прививания грам-отрицательных бацилл. Используйте Инструкцию по процедуре быстрой инокуляции для корректного использования быстрой методики.

3. Методика лог-фазы

Методика лог-фазы, при которой перед разбавлением до желательней концентрации бактериальная суспензия приводится к мутности, эквивалентной 0.5 Стандарта мутности сульфата бария Макфарлэнда, рекомендуется для более медленно растущих бактерий или для образцов, приносимых в конце дня³⁰

- a. Используя стерильный деревянный аппликатор или бактериологическую петлю, коснитесь поверхности 4-5ти больших или 5-10ти малых морфологически подобных, хорошо изолированных колоний с 18-24часовых неподавленных агаровых пластин.
- b. Эмульгируйте в 4 мл ВНІ бульона и ингибируйте при 35°C в течение 2-4 часов. Это и называется лог-фазой бактериальной суспензии.
- c. После и перед инкубацией панели перемешайте суспензию по 2-3 секунды.
- d. Используя бульон ВНІ, разбавьте лог-фазовую суспензию до мутности, эквивалентной 0.5 стандарта Макфарлэнда.
- e. Добавьте пипеткой 0.1 мл (100 мкл) стандартизированной суспензии к 25 мл инокуляционной воды с PLURONIC. Закройте плотно крышкой. Инвертируйте 8-10 раз для смешивания.

*Поверхностно-активные вещества PLURONIC®, зарегистрированная торговая марка корпорации BASF, Парсиппани, Нью-Джерси США

** 3М, Сент Пол, Миннесота США.

4. Методика постоянной фазы

Методика постоянной фазы может использоваться для быстрорастущих грам-отрицательных бацилл.

- a. Используя стерильный деревянный аппликатор или бактериологическую петлю, коснитесь поверхности 4-5ти больших или 5-10ти малых морфологически подобных, хорошо изолированных колоний с 18-24часовых неподавленных агаровых пластин.
- b. Эмульгируйте в 0.5 мл ВНІ бульона. Закройте плотно крышку.
- c. Перемешайте суспензию 2-3 секунды
- d. Откройте крышку пробирки и культивируйте в течение 4-6 часов при 35°C.
- e. После и перед инкубацией панели перемешайте суспензию по 2-3 секунды.
- f. Если бульон после инкубации мутный, добавьте 0.01 мл (10 мкл) суспензии в 25 мл инокуляционной воды с PLURONIC. Закройте плотно крышку. Инвертируйте пробирку 8-10 раз, чтобы раствор хорошо перемешался.

С. Тест оксидазы

Выполняйте тест оксидазы перед инокуляцией панели. Записывайте результаты в соответствующие графы рабочего листа или согласно

аппаратным требованиям. Рекомендуемым реактивом оксидазы является тетраметил-р-фениллен-диамин-дигидрохлорид.

D. Регидратация/инокуляция панели

Регидратация и прививание выполняется при помощи системы RENOK® и D-инокуляторов. Пользуйтесь Руководством оператора системы RENOK®. При использовании альтернативной системы регидрируйте с $115 \text{ мкл} \pm 10 \text{ мкл}$ инокуляционной воды (PLURONIC). Конечная концентрация лунки должна быть $3\text{-}7 \times 10^5 \text{ CFU/ml}$. Чтобы гарантировать жизнеспособность и чистоту тестируемого организма, следует приготовить чашу беспримесности путем впрыскивания инокулята на пластинку с кровяным агаром и последующим культивированием в течение 16-20 часов. Если на чаше беспримесности присутствуют два или больше типа колоний, повторно выделите колонии и проведите анализ.

E. Биохимические слои

1. Используя бутылочку с дозатором, нанесите три капли минерального масла на GLU, URE, H_2S , LYS, ARG, ORN и DCB. (Эти лунки подчеркнуты на панели).

2. Среда в лунках должна быть полностью покрыта слоем минерального масла, но оно не должно переполнять лунки.

ПРИМЕЧАНИЕ: приборы WalkAway® SI (и прибор WalkAway®, модернизированный автоматизированной функцией нанесения слоя масла) автоматически добавляют масло к соответствующим лункам.

F. Уплотнительные ленты

При работе с оксидаза-положительными организмами поместите уплотнительную ленту на CIT, MAL, ONPG, TAR, ACE, CET, OF/G, OF/V и DCB лунки. Четырехдюймовая щель локатора в ленте должна быть подсоединена к лунке DCB. Для систем WalkAway® вместо уплотнительных лент используется крышка.

G. Инкубация

1. Чтобы гарантировать равномерное тепловое распределение во время инкубации, ставьте панели друг на друга в группах по 3-5 штук.

2. Чтобы предотвратить испарение, поместите сверху каждой группы панелей чистый покрывающий лоток. Лотки можно использовать повторно. Для очистки лотков не применяйте спиртосодержащие вещества. Они могут быть очищены с мылом и водой. После этого их следует хорошо промыть и высушить.

3. Инкубируйте панели в течение минимум 16 часов при температуре 35°C в неуглекислотном термостате.

Н. Показания панелей

Панели могут читаться вручную с помощью микрорастворного вьювера MicroScan® и результатов, записанных на рабочих листах панелей, либо на MicroScan® инструментари (touchSCAN®-SR, autoSCAN®-4 и системы WalkAway®). Обращайтесь к соответствующему руководству оператора за информацией по MicroScan® инструментарию.

1. После 16-20 часов инкубации достаньте панели из термостата
2. Вытрите дно панели подходящей для этого тканью, чтобы удалить конденсат или остатки вещества.
3. Считывайте панели, только если лунка роста замутнена. Не считывайте результаты по антибактерицидам, если контрольная лунка мутна или если в лунке роста нет никаких новообразований. Рост в антимикробных лунках проявляется в виде мутности, которая может принимать форму белой мутности по всей лунке, белой кнопки в центре лунки или тонко-зернистого новообразования по всей лунке. Неадекватный рост или его отсутствие проявляется в виде небольшой белизны в лунке или чистоты бульона.
4. Если результаты считываются вручную, запишите их на соответствующем рабочем листе.
5. Показания шкалы антимикробной восприимчивости
 - a. Считывайте все антимикробные вещества и лунку СЕТ напротив темного (косвенно освещенного) фона.
 - b. Записывайте результаты проверки Восприимчивости/Точек осветления следующим образом:
 - 1) Результаты МПК
 - a) После 16-20 часов инкубации запишите МПК с последней лунки, показывающей процесс ингибирования роста, начиная с самой высокой концентрации.
 - b) Когда рост отмечается при всех концентрациях антимикробного вещества, МПК записывается как большая (>), чем самая высокая концентрация.
 - c) Когда рост не происходит ни при одной из концентраций бактерицида, МПК записывается как меньшая, чем или равная ($\leq$) самой низкой концентрации.
 - d) Чистая лунка в серии лунок роста, например, рост при 1, 2 и 8 мкг/мл, но не при 4 мкг/мл, называется пропускаемой лункой и её данные следует игнорировать
 - 2) Результаты по точкам осветления
 - a) Если после 16-20 часов инкубации роста в антимикробной среде не наблюдается, то это записывается как "S" (Восприимчивый).
 - b) Рост при более низкой концентрации бактерицида, но не при более высокой концентрации, записывается как "I" (Промежуточный).

с) Рост при обеих концентрациях антимикробного вещества или в единственной лунке регистрируется как "R" (Устойчивый).

d) Если при более высокой концентрации бактерицида рост отмечается, а при более низкой концентрации его нет, это может означать, что лунка загрязнена и тест следует повторить.

3) Рост пятна в привитых лунках свидетельствует о загрязнении. Тест следует повторить.

4) "Тянущийся эффект" может наблюдаться при некоторых комбинациях лекарственного средства/организма, таких как *Proteus* с цефуроксимом (Cgm) и имипенемом (Imp), *Serratia* с бета-лактамовыми антибиотиками (например, имипенемом (Imp) и пиперациллином / тазобактамом (P/T), *E. Coli* с сульфаметоксазолом (Sx) и *B. Cereacia* и *B. Pseudomallei* с цефтазидимом (Caz) пиперациллином (Pi)). «Ползучесть» также может наблюдаться у Триметоприма / Сульфаметоксазола (T/S), триметоприма (T) и сульфаметоксазола (Sx) при использовании регидратационно-инокуляционной системы RENOK®. Конечная точка является самой низкой концентрацией, которая при сравнении с лункой роста дает такие результаты:

а) приблизительно 80%-ое сокращение роста (T/S, T, Sx)

б) белая кнопка меньше 2 мм в диаметре, или

с) полупрозрачная белая кнопка.¹

6. Показание идентификационных субстратов

а. «Читайте» все идентификационные субстраты на белом фоне за исключением лунки CET и антибактериальных препаратов, используемых для идентификации (C₁₄, Cf₈, P₄, K₄, Fd₆₄, To₄), которые должны читаться напротив черного (косвенно освещенного) фона.

б. Ферментеры глюкозы - после инкубации в течение 16-24 часов, если лунка GLU — насыщенного желтого цвета, организм является ферментом глюкозы (следует проводить 24-ферментный тест). Если реакция глюкозы оранжевая или красная, организм - неферментер глюкозы. Некоторые разновидности неферментера могут давать золотистый цвет, который следует рассматривать как негативный результат. Некоторые разновидности *Pasteurella* не будут расти в лунке с глюкозой, покрытой минеральным маслом, но будут ферментировать с сахарозой и/или сорбитолом. Если лунка GLU не показывает роста и хотя бы одна из лунок SUC или SOR дают положительную реакцию, препарат следует считать ферментом глюкозы.

с. Неферментеры глюкозы - неферментеры Глюкозы могут анализироваться после инкубации в течение 16-24 часов, если **любая** из следующих комбинаций дает положительный результат: (1) ARG и OF/G или ARG и CET, (2) LYS, или (3) ORN. Если все эти

реакции негативны и в лунке роста происходит новообразование, запишите МПК, СЕТ и бактерициды, использованные для идентификации, и реинкубируйте еще 24 часа прежде, чем снять заключительные показания шкалы и идентификации.

d. Если после повторной инкубации организм все также не реагирует, проверьте, дает ли организм рост в феноловых красных углеводах (особенно, если в контроле Мюллер-Хинтона рост слабый или отсутствует). Если рост не происходит и в феноловых красных углеводах, организм может оказаться прихотливым, как, например, галофильный вибрион или разновидность ерсинии, которая лучше растет при 25°C, или препарат группы *Pasteurella/Actinobacillus*. Окраска Грама должна быть повторена, чтобы подтвердить грам-отрицательность.

Если заподозрен галофильный вибрион, проведите повторный анализ, эмульгируя несколько колоний в 3.0 мл стерильного 0.85 %-ного солевого раствора. Заключительная мутность должна быть эквивалентной 0.5 стандарта мутности сульфата бария Макфарлэнда. Регидратируйте панель с 25 мл непривитой инокуляционной воды с PLURONIC, используя RENOK®. Используя стерильную пипетку, добавьте одну каплю (45-50 мкл) суспензии физиологического раствора к каждой идентификационной лунке, включая лунки роста Cl₄ и Cf₈. Культивируйте панели при 35°C в течение 16-24 часов.

Типичные Индикаторы

Контрольная лунка чиста; большая кнопка в лунке роста.

Типичные кнопки роста в колонках 1 и 2;

Колонка 2 демонстрирует "пропуск" в лунках роста, которые должны быть проигнорированы.

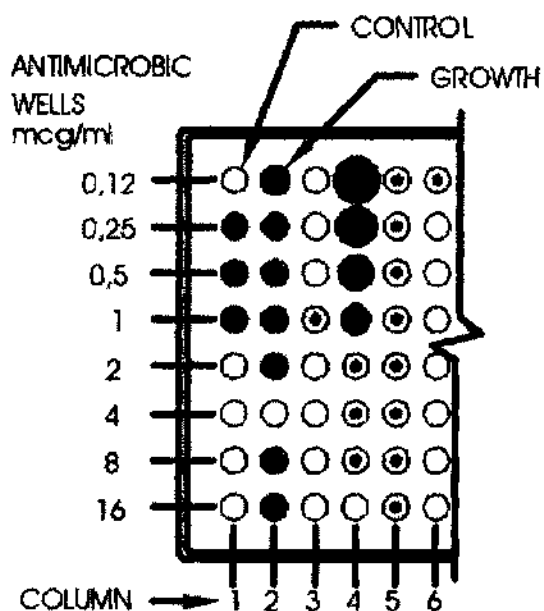
Эта единственная кнопка в колонке 3, граничащая с чистой лункой сверху и снизу, указывает на загрязнение пятна и должна быть проигнорирована.

МПК в колонке от 1 = 2 мкг/мл (самая низкая концентрация чистой лунки).

МПК в колонке 2 ≥ 16 мкг/мл (рост во всех лунках).

МПК в колонке 3 = ≤0.12 мкг/мл (роста нет ни в одной лунке).

МПК в колонке 4 = 2 мкг/мл (Тянущийся эффект в лунках 2-8;



ANTIMICROBIC WELLS=лунки с

бактерицидами

CONTROL=контроль

GROWTH=рост

COLUMN=колонка

типичный тянущийся эффект T/S). МПК в колонке 5 = ≤ 0.12 мкг/мл (Тянущийся эффект во всех лунках, таким образом МПК $\leq$. Это типично для некоторых комбинаций антимикробных веществ и организмов). МПК в колонке 6 = ≤ 0.12 μ г/мл	
---	--

е. перед считыванием результатов добавьте реактивы следующим образом:

- 1) Добавьте 1 каплю 40%-ой гидроокиси калия (KOH), после чего 1 каплю 5%-ого альфа-нафтола в лунку VP. Подождите по крайней мере 20 минут, пока будет происходить VP реакция.
- 2) Добавьте 1 каплю 10%-ого хлорного железа в лунку TDA. Цвет изменится немедленно.
- 3) Добавьте 3 капли MicroScan® реактива Ковача* в лунку IND. Цвет изменится немедленно.
- 4) Ко всем клиническим неферментерам и неферментерам КК добавьте 1 каплю 0.8 % сульфанилической кислоты, а затем 1 каплю 0.5 % N, N-диметил-альфа-нафтиламина в лунку NIT. Подождите по крайней мере 5 минут, чтобы развилась реакция.

f. За помощью в биохимической интерпретации обратитесь к разделу РЕЗУЛЬТАТЫ.

Контроль качества

Переносимость идентифицирующей среды и бактерицидных добавок должна быть проверена путем тестирования организмов с известными реакциями и диапазонами МПК. Результаты для рекомендуемых Американской коллекцией типовых культур (АКТК**) контрольных организмов перечислены в следующей таблице.

Таблица контроля качества (КК) – это комплексная таблица, которая включает диапазоны для всех растворов обезвоженных панелей MicroScan®. Возможно, потребуется экстраполироваться от Таблицы КК, основанной на определенном типе панели. Ниже приведены примеры для экстраполяции.

** Американская коллекция типовых культур, Манасас, Вирджиния США

Организм контроля качества	Аббр.	Конечн.точка таблицы КК	Раствор(ы) на панели	Экстраполир. диапазон КК
<i>E. coli</i> ATCC 25922	Ak	$\leq 2-8$	2, 8-32	$\leq 2-8$
<i>E. coli</i> ATCC 25922	A/S	1/0.5-4/2	8/4-16/8	$\leq 8/4$
<i>P. aeruginosa</i> ATCC	Te	8, 128	1-8	8 - >8

27853

P. aeruginosa ATCC Tim ≤ 8-32 16, 64 ≤16, 64
27853

Таблица контроля качества обезвоженного грам-негатива
***E. coli*² ATCC 25922 B1010-20A**
***P. aeruginosa*² ATCC 27853 B1010-21A**

Антимикробный препарат	Аббр.	Диапазон ¹ МПК	Диапазон ТО	Диапазон МПК	Диапазон ТО
Амикацин	Ak	≤2-8	≤16	≤2-8	≤16
Амоксицилин / Клавуланат ³	K Aug	2/1-8/4	≤8/4	>32/16	>16/8
Ампициллин	Am	2-8	≤8	>128	>16
Ампициллин Сульбактам ⁴	/ A/S	≤1/0.5-4/2	≤8/4	>32/19	>16/8
Азлоциллин	Az	≤64	---	≤64	---
Азтореонам ⁷	Azt	≤1	≤8	2-8	≤8
Карбенициллин	Cb	≤16	≤16	≤16-64	≤16->32
Карбенициллин-Псевдомоназ	Cb-P	---	≤128	---	≤128
Цефаклор	Cfr	≤2-8	---	>16	---
Цефамандол	Cfm	≤4	≤8	>32	>16
Цефазолин	Cfz	≤2-4	≤8	>16	>16
Цефдинир	Cdn	≤1	≤1	Н/П	Н/П
Цефепим	Cpe	≤2	≤8	≤2-4	≤8
Цефиксим	Cfe	≤0.25-1	---	>2	---
Цефонисид	Cfc	≤2	≤8	>16	>16
Цефоперазон	Cfp	≤4	≤16	≤4-8	≤16
Цефотаксим	Cft	≤2	≤8	8-32	≤8, 32
Цефотетан	Ctn	≤4	≤16	>32	>32
Цефокситин	Cfx	≤2-4	≤8	>16	>16
Цефподоксим	Cpd	<0.5-1	<2	>4	>4
Цефтриазидим ⁷	Caz	≤1	≤8	≤1-4	≤8
Цефтизоксим	Cz	≤2	≤8	16->32	32->2
Цефтриаксон ⁷	Cax	≤2	≤8	8->32	≤8->32
Цефутоксим	Crm	≤2-8	≤4-8	>16	>16
Цефалотин	Cf	4-16	≤8-16	>64	>16
Хлорамфеникол	C	≤2-8	≤8	>16	>16
Циноксацин	Cn	≤16	≤16	>32	>16
Ципрофлоксацин	Cp	≤0.25	≤1	≤0.25-1	≤1
ESBL-a	ESa	≤4	≤4	>4	>4
(Цефподоксим)					
ESBL-b	ESb	≤1	≤1	≤1->1	≤1->1
(Цефтазидим) ⁷					

Гатифлоксацин	Gat	≤0,5	≤2	≤0,5-2 ⁹	≤2 ⁹
Гентамицин	Gm	≤0.5-2	≤4	1-4	≤4
Имипенем	Imp	≤0.5	≤4	1-4	≤4
Левифлоксацин	Lvx	≤1	≤2	≤0.5-4	≤2-4
Ломефлоксацин	Lmf	≤1	≤2	≤1-4	≤2-4
Лоракарбеф	Lor	≤2	≤8	>16	>16
Меропенем	Mer	≤1	≤4	≤1	≤4
Мезлоциллин	Mz	≤8	≤16	>16	>16
Моксифлоксацин	Mxf	≤0.5	≤2	1->4 ⁹	≤2->4 ⁹
Налидиксическая кислота	NA	≤16	≤16	>16	>16
Нетилмицин	Nt	≤2	≤8	≤2-8	≤8
Нитрофурантоин	Fd	≤32	≤32	>64	>64
Норфлоксацин	Nxn	≤2	≤4	≤2-4	≤4
Офлоксацин	Ofl	≤0.5	≤2	1-4	≤2-4
Пиперациллин	Pi	≤8	≤16	≤8	≤16
Пиперациллин / Тазобактам ⁵	P/T	≤8	≤16	≤8	≤16
Спарфлоксацин	Sfx	≤0.25	---	0.5-2	---
Сульфаметоксазол	Sx	≤256	≤256	Н/П	Н/П
Тетрациклин	Te	≤0.5-2	≤4	8, 128	8->8
Тикарциллин	Ti	≤8	≤16	≤8-32	≤16, 64
Тикарциллин / К	Tim	≤8	≤16	≤8-32	≤16, 64
Тигециклин	Tec	≤1	≤2	N/A	N/A
Клавуланат ⁶					
Триметоприм	T	≤8	≤8	>8	>8
Тобрамицин	To	≤0.5-2	≤4	≤0.5-1	≤4
Триметоприм / Сульфаметоксазол	T/S	≤0.5/9.5	≤0.5/9.5	8/152->8/152	8/152->8/152

1. Диапазон = Ожидаемое значение (мкг/мл)

2. Диапазон некоторых бактерицидов не согласовывается с Допустимыми диапазонами контроля качества НККЛС, перечисленными в Таблице 3 из Документа НККЛС М7-А.

3. Дополнительная конечная точка 4/2-16/8 может быть получена для *E. coli* ATTC 35218 (B1013-65).

4. Дополнительная конечная точка 8/4-32/16 может быть получена для *E. coli* ATTC 35218 (B1013-65).

5. Дополнительная конечная точка ≤8 может быть получена для *E. coli* ATTC 35218 (B1013-65).

6. Дополнительная конечная точка ≤8-16 может быть получена для *E. coli* ATTC 35218 (B1013-65).

7. При использовании функции ESBL скрининга может быть получена дополнительная конечная точка >1 мкг/мл для *K. pneumoniae* ATCC 700603 (B10163-84).

8. При использовании функции ESBL скрининга может быть получена дополнительная конечная точка >4 мкг/мл для *K. pneumoniae* ATCC 700603 (B10163-84). Не поддерживается системой управления данными для версий до 24.20 включительно и версиями LabPro 1.1 или менее.

9. Организм предназначен только для контроля качества.

*Реагент Ковача MicroScan® представляет из себя особую формулу, разработанную для использования с инструментами MicroScan®. При считывании вручную необходима одна капля препарата.

** Американская коллекция типовых культур, Манассас, Вирджиния США

Таблица контроля качества для идентифицирующих субстратов для обезвоженных грам-негативов

	E. coli ATCC ¹ 25922 B1010- 20A	P. aeruginos a ATCC 27853 B1010- 21A	K. oxytoca ATCC 49131 B1010- 24A	P. vulgaris ATCC 49132 B1010- 25A	
GLU	+	-	+	+	1. Американская коллекция типовых культур, Манассас, Вирджиния США 2. Может потребоваться 48-часовое инкубирование 3. Дополнительные положительные/отрицательные реакции для каждого биохимиката находятся в таблице. Дополнительный тест обезвоженного грам-негатива 4. <i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853 может давать в лунке VP бледно-розовый цвет после 18 часов инкубирования, что означает отрицательный результат. Слабая положительная реакция для <i>E. coli</i> ФЕСС 25922 может быть получена, если панели инкубированы более 18 часов Н/П=не применимо ПРИМЕЧАНИЕ: Организмы контроля качества отобраны, чтобы давать положительную / отрицательную реакцию на все идентифицирующие субстраты. Как следствие, идентификация организма может отличаться от
SUC	-	-	+	+	
SOR	V	-	+	-	
RAF	-	-	+	-	
RHA	+	-	+	-	
ARA	+	-	+	-	
INO	-	-	+	-	
ADO	-	-	+	-	
MEL	V	-	+	-	
URE ³	-	V	V	V	
H ₂ S	-	-	-	+	
IND	+	-	+	+	
LYS	+	-	+	-	
ARG	-	+	-	-	
ORN	+	-	-	-	
TDA	-	-	-	+	
ESC	-	-	+	V	
VP	-	- ⁴	+	V	
CIT	-	+	+	V	
MAL	-	+	+	-	
ONPG	+	-	+	-	
TAR ^{3,5}	-	V	V	V	
ACE	-	+ ²	-	V	
CET	-	+	-	-	

OF/G ³	+	V	+	+	приведенной в таблице КК. Приемлемость работы изделия определяется сравнением результатов анализа, не идентификацией.
OF/B	Синий Зеленый - Зеленый	Синий Зеленый	Синий Зеленый - Зеленый	Синий Зеленый й- Зелены й V	
P ₄ ³	+	+	+	V	
NIT ³	+	V	+	+	
DCB	Желтый	Серый- Желтый Серый	Желтый	Н/П	
Cl ₄	-	-	-	+	
Fd ₆₄	-	+	-	Н/П	
Cf ₈ ³	V	+	V	V	
K ₄ ³	V	+	V	Н/П	
To ₄ ³	-	-	-	Н/П	

Таблица Дополнительный тест обезвоженного грам-негатива

Организм	Субстрат	Ожидаемое значение
<i>P. stuartii</i> ATCC 49809 (B1013-64)	URE	+
<i>P. putidas</i> ATCC 49128 (B1013-42A)	TAR	+
	NIT	-
	K ₄	-
<i>S. (P.) putrifaciens</i> ATCC 49138 (B1013-34A)	OF/G	-
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212 (B1010-22A)	P ₄	-
<i>S. aureus</i> ATCC 29213 (B1010-23B)	Cf ₈	-
<i>B. (P.) pickettii</i> ATCC 49129 (B1010-21E)	To ₄	+

Результаты

А. Биохимические результаты

1. Биохимические интерпретации

Лунка	Реагент	Положительная	Отрицательная
GLU		Только сильный желтый Некоторые неферменторы могут давать золотистый цвет, что означает отрицательную реакцию	От оранжевого до красного
SUC, SOR, RAF, RHA,		От желтого	От оранжевого до

ARA, INO, ADO, MEL	желто-оранжевого	красного
URE	От пурпурного до розового	Желтый, оранжевый или светло-розовый
H ₂ S	Черный осадок или черная кнопка	Почернения нет
IND	Добавьте 3 капли (или одну каплю, если панель читается визуально) реагента Ковача от MicroScan®. Цвет изменится мгновенно.	От розового до красного От бледно-желтого до оранжевого

Providencia sp. Может давать бледный розовый слой, что считается положительным результатом

Сравните LYS, ARG и ORN с DCB. Лунка с DCB должна быть покрыта слоем масла, чтобы следующие результаты считались корректными. Для неферментеров положительный результат должен давать значительно более насыщенный фиолетовый цвет, чем базовый контрольный препарат. Если базовый контрольный препарат дает фиолетовый цвет, то базовая среда ошелочилась и результаты для LYS, ARG и ORN должны быть записаны как отрицательные. Разновидности *Achromobacter* и *Ochrobactrum anthropi* стремятся к этому.

LYS	Ферментеры: От фиолетового до серого	Желтый
ARG	Неферментеры:	
ORN	Фиолетовый	От бесцветного до серого
TDA	Добавьте 1 каплю 10% хлористого железа. Цвет изменится мгновенно.	Любой оттенок коричневого От желтого до оранжевого
ESC	От коричневого до черного	От бежевого до бесцветного
VP	Добавьте 1 каплю 40% КОН, после чего 1 каплю 5% альфа нафтола. Подождите хотя	Красный Бесцветный

бы 20 минут,
чтобы развилась
реакция.

Некоторые неферменторы могут давать
бледный розовый цвет после 18 часов
инкубирования, что означает
отрицательный результат.

ONPG	Желтый Бесцветный Сравните с цетавлоновой лункой любую лунку ONPG, которая кажется чистой. Если ONPG лунка желтее цетавлоновой лунки, результат записывается как положительный.	
CIT, MAL, TAR ACE	От синего до сине-зеленого Любой оттенок синего	От зеленого до желтого означает положительную реакцию
CET	Есть рост	Нет роста
OF/G	ПРИМЕЧАНИЕ: Сравните с OF базовым контрольным препаратом. Если базовый OF желтый зеленый: Если базовый OF От желтого до Синий синий или сине-зеленого зеленый:	
NIT	Добавьте 1 каплю 0.8% сульфанилической кислоты, а затем 1 каплю 0.5% N, N-диметил-альфа-нафтиламина. Подождите по крайней мере 5 минут, чтобы развилась реакция.	Красный От бесцветного до бледно-розового
P ₄ , K ₄ , Cl ₄ , Fd ₆₄ , To ₄ , Cf ₈	Есть (устойчивый) рост	Нет (восприимчивый) роста
LOC	Только для использования с панелями систем autoSCAN®-4 и WalkAway®	

2. Принципы идентификационных реакций

Ферментация Углевода (GLU, SUC, SOR, RAF, RHA, ARA, INO, ADO, MEL): Ферментация определенного углевода приводит к формированию кислоты и снижению pH фактора и обнаруживается феноловым красным индикатором.

Мочевина (URE): фермент уреазы раскалывает мочевино-формирующий аммиак. В результате увеличивается pH фактор, что обнаруживается феноловым красным индикатором.

Сероводород (H_2S): газ сероводорода происходит из тиосульфата натрия и реагирует выделением ионов железа в среду, что вызывает черный осадок.

Индол (IND): Метаболизм триптофана приводит к формированию индола, что обнаруживается реактивом Ковача. Если индол присутствует, то появляется красный цвет.

Лизин, аргинин, орнитин (LYS, ARG, ORN): Декарбоксилирование этих аминокислот приводит к формированию основных аминов, которые обнаруживаются бромкресоловым фиолетовым индикатором.

Дезаминаза Триптофана (TDA): Бактерии, способные к дезаминированию триптофана, производят индолепирувическую кислоту, которая реагирует с двойной солью лимоннокислого железа в среде с хлорным железом. Реакция имеет коричневый цвет.

Гидролиз Эскулина (ESC): Гидролиз эскулина определяется двойной солью лимоннокислого железа и лимоннокислого аммония в среде, которая реагирует на гидролитические продукты, давая черный осадок.

Voges-Proskauer (VP): Ацетилметилкарбинол получается из пировинограднокислого натрия и обнаруживается образованием красного цвета после дополнения 40%-ой гидроокиси калия и 5%-ого альфа-нафтола.

Галактозидаза (ONPG): β -галактозидаза гидролизует орто-нитрофенил- β -D-галактопиранозид, который выделяет желтый орто-нитрофенол.

Цитрат, малонат, ацетамид, тартрат (CIT, MAL, ACE, TAR): использование этих субстратов как единственных источников углерода для метаболизма приводит к повышению pH фактора, который обнаруживается бромтимоловым синим индикатором.

Ферментация окисления (OF/G): Окисление глюкозы приводит к формированию кислоты и снижению pH фактора, что обнаруживается бромтимоловым синим индикатором. OF/G сравнивается с OF/B (основа), чтобы определить, была ли произведена какая-нибудь кислота.

Нитрат (NIT): Способность организма восстановить нитрат до нитрита обнаруживается добавлением ссульфанилической кислоты и N, N-

диметил -альфа -нафтиламина, что дает красный цвет в присутствии нитрита.

Цетримид (CET): Терпимость к цетримиду продемонстрирована нововозобразованиями в бульоне Мюллер-Хинтона с добавлением цетримиды.

Пенициллин, канамицин, колистин, цефалотин, нитрофурантоин, тобрамицин (P₄, K₄, Cl₄, Cf₈, Fd₆₄, To₄): Устойчивость к определенным концентрациям этих бактерицидных добавок объясняется наличием новообразований.

3. Идентификация Организма

Для идентификации неизвестных организмов используется Книга с кодами биотипов аэробных грам-отрицательных бацилл MicroScan®. Эта книга состоит из двух разделов: аэробные грам-отрицательные бациллы-ферментеры глюкозы и аэробные грам-отрицательные бациллы-неферментеры глюкозы/медленные ферментеры глюкозы. Эти книги с кодами были созданы на основе собственной базы данных MicroScan для тестов, включенных в Обезвоженные грам-отрицательные панели. Грам-отрицательная книга с кодами позволяет проводить компьютерный анализ 23-24 тестов. Результаты тестов переводятся в 8-цифровой номер биотипа. Обращайтесь к книге кодов или Руководству микробиолога, чтобы узнать больше о процедуре регистрации результатов. Книга с кодами содержит идентификационные данные организмов и показатели относительной вероятности. Все величины вероятности приводятся в порядке от самой высокой до совокупной общей 99.9 %.

Если число биотипа не находится, следует исключить ошибку в проведении процедуры. Если повторное тестирование дает тот же результат, сообщите номер биотипа по телефону в службу поддержки MicroScan®. Телефонные номера можно найти на последней странице.

В. Интерпретация результатов МПК

Восприимчивость определяется сравнением МПК организма с достижимым уровнем крови или мочи антимикробного препарата. Следующая таблица перечисляет критерии интерпретации, указанные в документе НККЛС M100-S9. Некоторые из них отличаются от интерпретирующих точек освещения изготовителя, перечисленных в Настольном справочнике врача, издания 1997 года.

С. Интерпретации результатов ESBL

Клинические штаммы *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae* и *Escherichia coli* с увеличенными показателями МПК (≥ 2 мкг/мл) цефтазидима, азтреонама, цефотаксима, цефтриаксона, или МПК ≥ 2 или ≥ 8 мкг/мл (в зависимости от типа панели) цефподоксима должны подозреваться

в сокрытии бета-лактамазы расширенного спектра (ESBL). (Цефотаксим и цефтриаксон - менее чувствительные индикаторы при этой концентрации). За рекомендациями относительно подтверждающего тестирования, обращайтесь к текущим Стандартам ²² НККЛС.

Интерпретирующие точки осветления*

Антимикробные агенты	Чувствительный	Промежуточный	Устойчивый
Амикацин	≤16	32	≥64
Амоксициллин / К Клавуланат- <i>Enterobacteriaceae</i>	≤8/4	16/8	≥32/16
Амоксициллин ³ - <i>Enterobacteriaceae</i> и <i>V. cholerae</i>	≤8	16	≥32
Ампициллин / Сульбактам- <i>Enterobacteriaceae</i> и <i>Acinetobacter spp.</i>	≤8/4	16/8	≥32/16
Азлоциллин- <i>P. aeruginosa</i>	≤64	--	≥128
Азтреонам ⁴	≤8	16	≥32
Карбенициллин ¹ <i>P. aeruginosa</i>	≤128	256	≥512
Другие грам-негативы	≤16	32	≥64
Цефактор- <i>Enterobacteriaceae</i>	≤8	16	≥32
Цефамандол ¹ - <i>Enterobacteriaceae</i>	≤8	16	≥32
Цефазолин ¹ - <i>Enterobacteriaceae</i>	≤8	16	≥32
Цефдинир- <i>Enterobacteriaceae</i>	≤1	2	≥4
Цефепим	≤8	16	≥32
Цефиксим- <i>Enterobacteriaceae</i>	≤1	2	≥4
Цефоницид- <i>Enterobacteriaceae</i>	≤8	16	≥32
Цефоперазон	≤16	32	≥64
Цефотаксим ^{1,4}	≤8	16-32	≥64
Цефотетан- <i>Enterobacteriaceae</i>	≤16	32	≥64
Цефокситин ¹ - <i>Enterobacteriaceae</i>	≤8	16	≥32
Цефподоксим ⁴ - <i>Enterobacteriaceae</i>	≤2	4	≥8
Цефтазидим ^{1,4}	≤8	16	≥32
Цефтизоксим	≤8	16-32	≥64
Цефтриаксон ^{1,4}	≤8	16-32	≥64

Цефуроксим (оральный)- <i>Enterobacteriaceae</i>	аксетил	≤4	8-16	≥32
Цефуроксим (парентеральный)- <i>Enterobacteriaceae</i>	натрия	≤8	16	≥32
Цефалотин- <i>Enterobacteriaceae</i>		≤8	16	≥32
Хлорамфеникол ³ - <i>V. Cholerae</i> и другие грам-негативы кроме <i>P. aeruginosa</i>		≤8	16	≥32
Циноксацин- <i>Enterobacteriaceae</i>		≤16	32	≥64
Ципрофлоксацин		≤1	2	≥4
Гатифлоксацин- <i>Enterobacteriaceae</i>		≤2	4	≥8
Гентамицин		≤4	8	≥16
Имипенем		≤4	8	≥16
Левифлоксацин		≤2	4	≥8
Ломефлоксацин		≤2	4	≥8
Лоракарбеф- <i>Enterobacteriaceae</i>		≤8	16	≥32
Меропенем		≤4	8	≥16
Мезлоциллин ¹ <i>P. aeruginosa</i>		≤64	--	≥128
другие грам-негативы		≤16	32-64	≥128
Моксифлоксацин- <i>Enterobacteriaceae</i>		≤2	4	≥8
Налидиксическая <i>Enterobacteriaceae</i>	кислота-	≤16	--	≥32
Нетилимицин ¹		≤8	16	≥32
Нитрофурантоин- <i>Enterobacteriaceae</i>		≤32	64	≥128
Норфлоксацин		≤4	8	≥16
Офлоксацин		≤2	4	≥8
Пиперациллин ¹ <i>P. aeruginosa</i>		≤64	--	≥128
другие грам-негативы		≤16	32-65	≥128
Пиперациллин/Тазобактам <i>P. aeruginosa</i>		≤64/4	--	≥128/4
другие грам-негативы		≤16/4	32/4-64/4	≥128/4
Спарфлоксацин ²		≤1	2	≥4
Сульфаметоксазол ³ - <i>V. cholerae</i> и		≤256	---	≥512

другие грам-негативы, кроме <i>P. Aeruginosa</i>			
Тетрациклин ³ - <i>V. cholerae</i> и другие грам-негативы, кроме <i>P. aeruginosa</i>	≤4	8	≥16
Тикарциллин ¹			
<i>P. aeruginosa</i>	≤64	--	≥128
другие грам-негативы	≤16	32-64	≥128
Тикарциллин/К.Клавуланат ¹			
<i>P. aeruginosa</i>	≤64/2	--	≥128/2
другие грам-негативы	≤16/2	32/2-64/2	≥128/2
Тобрамицин	≤4	8	≥16
Тигециклин- <i>Enterobacteriaceae</i>	≤2	4	≥8
Триметоприм- <i>Enterobacteriaceae</i>			
Триметоприм	≤8	---	≥16
Сульфаметоксазол ³ - <i>cholerae</i> и другие грам-негативы, кроме <i>P. aeruginosa</i>	/ ≤2/38	---	≥4/76

*Основано на интерпретирующих точках осветления, как указано в документе НККЛС М100-S13. Безопасность антимикробных веществ, включенных в эту панель, и их эффективность в лечении клинических инфекций всех проверенных организмов не доказана. Для формирования отчетов по антибактериальным препаратам, которые показали активность против групп организмов в лабораторных условиях или в клинических инфекциях, используйте документ М100 НККЛС, Таблицы 1 и 2 или фармацевтический вкладыш.

1. Интерпретирующие точки осветления НККЛС для этого препарата отличаются от точек осветления изготовителя.
2. Основано на точках осветления изготовителя.
3. Интерпретации для *V. cholerae* существуют только для антимикробных препаратов *V. cholerae*
4. Клинические штаммы *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, и *Escherichia coli* с увеличенными МПК (≥ 2 мкг/мл) цефподоксима, цефтазидима, азтреонама, цефотаксима, или цефтриаксона должны подозреваться в сокрытии бета-лактамазы расширенного спектра (ESBL). (Цефотаксим и цефтриаксон - менее чувствительные индикаторы при этой концентрации). За рекомендациями относительно подтверждающего тестирования обращайтесь к текущим Стандартам²² НККЛС.

Ограничения Процедуры

1. Прихотливые бактерии *Haemophilus* и другие прихотливые грамотрицательные бактерии не будут расти в бульоне Mueller-Hinton, в который не добавлено препаратов обогащения роста.
2. Анаэробные бактерии - антимикробные панели и процедуры, описанные здесь, подходят только для факультативных анаэробных и аэробных грам-отрицательных бацилл.
3. Исследования деятельности в лабораторных условиях цефамандола против *Enterobacter spp.* продемонстрировали высокую частоту устойчивых вариантов в пределах бульонных культур *Enterobacter spp.*, вызывая предположение, что цефамандоловая химиотерапия, направленная против этих организмов, должна быть тщательно оценена при сравнении с другими цефалоспоридами или другими антибактериальными агентами.⁸
4. Если на один номер биотипа приходится больше, чем одна идентификация разновидностей, могут понадобиться дополнительные тесты, чтобы окончательно провести идентификацию.
5. Для интерпретации результатов тестирования требуется обученный клинический персонал, который должен использовать свои аналитические способности, полученные знания, а когда требуется - и проводить дополнительные подтверждающие тесты для идентификации организма.
6. Числа биотипа не должны использоваться для идентификации фенотипа штаммов, взятых из различных образцов того же самого пациента.
7. Результаты, полученные с упомянутыми ниже комбинациями организма и бактерицидной добавки, показали несоответствующий уровень МПК по сравнению с соответствующим ночным методом. Если бактерицидная добавка критически важна для лечения пациента, следует использовать альтернативную процедуру.

Организм	Критически важные для лечения препараты, которые можно не использовать	Препараты, которых можно не сообщать	альтернативный метод
<i>Providencia spp</i>	Цефдинир		
<i>Shigella spp.</i>	Ампициллин		
<i>Acinetobacter spp.</i>	Пиперациллин	тазобактам	/
<i>S. maltophilia</i>	Пиперациллин	тазобактам Азлоциллин ² , карбенициллин ² , мезлоциллин ² ,	/

	пиперациллин, тикарциллин ² , цефеперазон ²
<i>P. aeruginosa</i>	Гатифлоксацин Моксифлоксацин Спарфлоксацин

1. Когда функция печати не остановлена DMS, следует вручную запретить выдачу результата. Пожалуйста, консультируйтесь с Руководством по использованию DMS.

2. Печать не запрещается в Системе Обработки данных (DMS) версии: ≤ V23.05.

8. Результаты сравнительного тестирования между обезвоженными грамнегативными панелями MicroScan® и установленными НККПС панелями не согласовывались с допускаемыми НККПС диапазонами контроля качества для *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218 и *P. aeruginosa* ATCC 27853 с определенными бактерицидными добавками. Смотрите Таблицу Контроля Качества (КК) в этом руководстве.

9. Работа альтернативных методов была сравнена с результатами, полученными с обезвоженными панелями, считанными вручную, с использованием метода прививки стандарта мутности. Процент согласованности (+/-одно разбавление) был меньшим 95 % для следующих методов.

Бактерицидная добавка

Локарбеф

Метод

Неподвижный, лог

10. Процедура для цефдинира, цефепима, гатифлоксацина, левофлоксацина, меропенема, моксифлоксацина и спарфлоксацина не была установлена для постоянного и лог-метода инокуляции. Инокулят должен готовиться методом мутности или Prompt™.

11. Результаты идентификации для *P. Aeruginosa*, взятого у кистозных пациентов, не могут считаться надежными из-за различий в биохимических реакциях между этими штаммами и другими штаммами *P. aeruginosa*. Для идентификации штамма, подозреваемого в *P. Aeruginosa*, взятого у пациентов с кистозным фиброзом, должны использоваться альтернативные методы.

12. Результаты autoSCAN®-4, полученные для штаммов *P. Aeruginosa*, взятых от пациентов с кистозным фиброзом, показали несоответствующие МПК при сравнении с ночным методом. Из-за вероятности слишком малого роста с *P. aeruginosa* от кистозных пациентов результаты МПК для таких штаммов должны быть получены считыванием панелей вручную или с прибором WalkAway®.

Ошибочные Результаты

Стандарт М7-А6 НККЛС заявляет, что при тестировании определенных комбинаций бактерицидных агентов и некоторых организмов могут быть получены потенциально опасные в своей некорректности результаты. Это такие комбинации, как:

- а. первая и вторая генерация цефалоспоринов и аминогликозиды против *Сальмонеллы* и *Шигеллы*.
- б. бактерицидные агенты бета-лактама против *Иерсинии пестис* (*Yersinia pestis*)(не присутствует в соответствующем программном обеспечении до версий 24.20 и 1.1 включительно).

Информационный менеджер системы LabPro сообщит только показатель минимальной подавляющей концентрации, а не интерпретацию тех случаев, когда будут встречаться вышеупомянутые перечисленные комбинации антимикробных препаратов и организма.

Ожидаемые Значения

За ожидаемыми идентифицирующими значениями обращайтесь к Процентным Диаграммам MicroScan®, включенным в Книгу кодов для аэробных грам-отрицательных бацилл, либо за данными для ферментеров глюкозы и неферментеров глюкозы/медленных ферментеров глюкозы к Руководству микробиологов.

Особенности эксплуатации

Работа обезвоженных панелей MicroScan® была оценена в нескольких клинических лабораториях. Антимикробы в Таблице 1 и Таблице 2 были протестированы на обезвоженных панелях MicroScan® с использованием инокуляционного метода мутности и читались вручную. Эти результаты были сравнены с соответствующей системой МПК. Для антимикробных агентов, очищенных для использования на обезвоженных панелях MicroScan® после декабря 1993 года, в Таблице 2 приведены начальная и конечная эффективности. Конечная эффективность включает повторное тестирование, с целью разрешения несоответствия.

Таблица 1
Процентное согласование с референтным методом

Антимикробный агент	Число протестированных штаммов	МПК	Категорич.
Амикацин	404	97	99
Амоксициллин / К	350	92	98
Клавуланат			
Ампициллин	415	99	99
Ампициллин /	296	99	99
сульбактам			
Азлоциллин	72	---	100
Азтреонам	350	---	98
Карбенициллин	404	---	96
Цефаклор	296	97	98
Цефамандол	404	100	100
Цефазолин	324	---	100
Цефиксим	296	98	97
Цефоницид	350	---	92
Цефоперазон	404	100	100
Цефотаксим	404	100	100
Цефотетан	350	---	96
Цефокситин	404	---	99
Цефтазидим	300	95	98
Цефтизоксим	324	99	100
Цефтриаксон	300	94	99
Цефуроксим	324	---	100
Цефалотин	404	98	100
Хлорамфеникол	404	---	99
Циноксацин	324	---	100
Ципрофлоксацин	350	---	100
Гентамицин	404	98	100
Имипенем	350	90	98
Ломефлоксацин	300	99,7	100
Мезлоциллин	90	---	100
Налидиксическая кислота	354	100	100
Нетилмицин	324	99	99
Нитрофурантоин	354	---	99
Норфлоксацин	350	---	99
Офлоксацин	562	99,8	100
Пиперациллин	404	---	99
Сульфаметоксазол	354	---	99

Тетрациклин	404	99	100
Тикарциллин	354	---	100
Тикарциллин / К	350	90	100
Клавуланат			
Тобрамицин	404	99	100
Триметоприм	354	---	100
Триметоприм /	404	---	100
сульфаметоксазол			

Таблица 2
Процентное согласование с референтным методом

Бактерицидная добавка	Кол-во протести- рованных х штаммов	Начальн., %		Окончательн., %	
		МПК	Категорич.	МПК	Категорич.
Цефдинир					
Формат МПК	333	96.1	98.2	97.9	98.8
Формат Точек	333	---	94.0	---	94.3
Осветления (ТО)					
Цефепим					
Формат МПК	730	97.4	99.2	98.6	99.3
Формат ТО	730	---	95.2	---	95.2
Цефподоксим					
Формат МПК	622	96.1	98.1	98.6	99.2
Формат ТО	622	---	93.6	---	94.7
Гатифлоксацин	415	99	97	---	---
Левифлоксацин					
Формат МПК	318	98.4	99.7	100	100
Формат ТО	318	---	95.0	---	95.0
Лораксацин					
Формат МПК	622	95.2	98.9	96.6	99.4
Формат ТО	622	---	97.7	---	98.2
Меропенем					
Формат МПК	318	98.7	100	99.1	100
Формат ТО	318	---	99.4	---	99.4
Моксифлоксацин	415	99	98	---	---
Пиперацillin	/				
тазобактам					
Формат МПК	572	93.5	96.7	93.9	97.2

Формат ТО	572	---	94.8	---	94.9
Спарфлоксацин					
Формат МПК	318	97.2	99.4	99.1	99.7
Формат ТО	318	---	94.3	---	94.7
Тигециклин	382	99			98.7

Воспроизводимость

Исследования воспроизводимости были проведены во множественных клинических лабораториях, чтобы подтвердить приемлемую работу с рекомендуемыми методами, описанными в Руководстве по проведению процедуры.

ESBL скрининг

Обезвоженные грам-негативные панели MicroScan были оценены для тестирования ESBL производства с клиническими штаммами *Klebsiella oxytoca*, *K. pneumoniae*, и *Кишечной палочки*. Определенные для панели чувствительность и специфичность были оценены сравнением минимальной подавляющей концентрации с панелями MicroScan с результатами молекулярного исследования как эталонного метода. Микрофлора состояла из 128 наследственно характеризующихся штаммов и проводилась на одной внешней площадке. Чувствительность была вычислена у 74 ESBL-позитивных штаммов, в то время как специфичность была вычислена у 54 ESBL-отрицательных штаммов, включая 20 с *ampC* бета-лактамазами. Штаммы с *ampC* бета-лактамазами могут показать увеличенные уровни минимальной подавляющей концентрации к пяти препаратам-индикаторам и не могут быть отличены при помощи ESBL тестирования от ESBL штаммов без дополнительного подтверждения. Фенотипическое подтверждение ESBL-производящих штаммов может быть получено с использованием альтернативного метода тестирования. За рекомендациями относительно подтверждающего тестирования обращайтесь к текущим стандартам НККЛС. Разработка методик тестирования и формулирования результатов приветствуются.

Дополнительная клиническая информация и программное обеспечение могут быть получены в Руководстве по эксплуатации ESBL от MicroScan®.

Следующая таблица содержит показатели чувствительности и результаты специфичности по типу панели. Определенная для панели производительность меняется в зависимости от антимикробных препаратов, включенных в панель, и их концентраций. Для определения чувствительности и специфичности для панелей с концентрацией цефподоксима 1 мкг/мл (не включая его концентрацию

в 4 мкг/мл), следуйте инструкциям НККЛС в M100-S12. Панели без цефподоксима с концентрацией в 1 или 4 мкг/мл, либо 1 мкг/мл для цефтазидима, азтреонама, цефотаксима, цефтриаксона, являются менее чувствительными индикаторами и не рекомендованы для исследований, хотя и могут использоваться для обнаружения повышенных уровней производства ESBL.

Работа панели (M100-S11)

Точка осветления для Cpd, Caz, Azt, Cft, Cax равна 2мкг/мл

Типы панелей	Чувствительность 74 положительных штаммов (интервал доверия 95%)	Специфичность 34 отрицательных штаммов + 20 ampC штаммов (интервал доверия 95%)
Нег ТО Комбо-11, 12, 13	74/74=100% (95,1-100%)	33/54=61,1% (46,9-74,1%)
Нег Комбо-21, 22, 25, 26, 27		
Нег/Урина МПК-7, 10, 11		
Нег/Урина Комбо-2, 3, 4, 5		
Нег ТО Комбо-14, 16	74/74=100% (95,1-100%)	32/54=59,3% (45,0-72,4%)
МПК +2	73/74=98,6% (92,6-100%)	32/54=59,3% (45,0-72,4%)
Нег Комбо-30, 31, 32	74/74=100% (95,1-100%)	33/54=61,1% (46,9-74,1%)
Нег/Урина Комбо-33, 34, 35		
Нег ТО Комбо-30,31		
Нег МПК 30		
Нег МПК +4		
Нег МПК +3		
Нег Комбо-20, 23	74/74=100% (95,1-100%)	34/54=63,0% (48,7-75,7%)

Список использованных источников:

1. Мюррей, Р.Р., Е.Дж. Барон, М.А. Пфаллер, Ф.С. Теноверг, и Р.Х. Иолкен (редакторы), 2003. Руководство Клинической Микробиологии, 8-ая редакция, Американское общество Микробиологов, Вашингтон округ Колумбия
2. Барри, А. Л. 1970. Антимикробный Тест Восприимчивости, Принципы и Методы. Филадельфия, р.26.
3. Барри, А. Л., Ф. Гарсия, и Л. Д. Трапп, 1970. Улучшенный единственный дисковый метод для того, чтобы проверить восприимчивость антибиотика. Клин. Пат. 53:149.
4. Барри, А. Л., и Л. Дж. Эффинджер. 1974. Оценка полуавтоматизированной системы микроразбавления при тестировании антибиотической восприимчивости. 109.
5. Барри, А. Л., Р. Н. Джонс, и Т. Л. Гэвэн. 1978. Оценка Системы Микросреды для количественного антимикробного тестирования восприимчивости: совместное исследование. Антимикроб. Агенты Хематер. 13:61.
6. Читвуд, Л. А. 1969. Тестирование восприимчивости антибактериального препарата пробирочного разбавления: эффективность микрометодики, применимой к диагностическим лабораториям. Прикладная Микробиология. 17:707.
7. Эрикссон, Н. М., и Дж. С. Шеррис. 1971. Антибиотическое тестирование чувствительности: Отчет международного совместного исследования. 217:1.
8. Финделл, С. М., и Дж. С. Шеррис. 1976. Восприимчивость Энтеробактер к Сифэмэндоул. Антимикроб. Агенты Хематер. 9:974.
9. Фучс, Р. С., Р. Н. Джонс, и Н. М. Соммерс. 1976. Руководство для Метода Репликатора. АСКП, Чикаго.
10. Гэвэн, Т. Л., Н. В. Макфэдден, младший, и Е. Л. Чезтл. 1971. Антибактериальное Тестирование Восприимчивости. Сок. Клин. Пат., Чикаго.
11. Гэвэн, Т. Л., и М. А.Таун. 1969. Микрометод разведения для антибиотического тестирования восприимчивости. 73.
12. Гэвэн, Т. Л., и М. А. Таун. 1970. Микрометод разведения для антибиотического тестирования восприимчивости. Клин. Пат. 53:880.
13. Гэвэн, Т. Л., и Д. А. Батлер. 1974. Автоматизированный микрометод разведения для тестирования антибактериальной восприимчивости. стр. 88. В. А. Бэлоус (редактор) Методики Потока для Антибактериального Тестирования Восприимчивости. С. С. Томас, Спрингфилд.
14. Джерлак, Е. Н. 1974. Микроразбавление: сравнительное изучение, стр. 63. В. А. Бэлоус (редактор) Методики Потока для Антибиотического Тестирования Восприимчивости. С. С. Томас, Спрингфилд.

15. Джерлак, Е. Н., Р. Дж. Тэйлор, и В. Бомэн. 1969. Сравнение руководства и автоматизированный метод чувствительности антибиотика. Клин. Стандарт 52:748.
16. Харвик, Н. Дж., П. Веисс, и Ф. Фекети младший, 1968. Методик микротитрования к бактериостатическому антибиотическому тестированию восприимчивости. Клин. Медиана 72:511.
17. Клэстерски, Дж., Д. Дэнео, Г. Свингс, и Д. Виртс, 1974. Антибактериальная деятельность в сыворотке и моче. Лечебное руководство при бактериальных инфекциях. 129:187.
18. Макфэддин, Дж. Ф. 1980. Биохимические Тесты на Идентификацию Медицинских Бактерий, 2-ая редакция, Виллиэмс и Вилкенс, Балтимор.
19. Маклори, Дж. Д., и Н. Н. Марш. 1968. Полуавтоматическая микрометодика для тестирования чувствительности антибиотика серийного разведения в клинической лаборатории. Клин. Медиана 72:685.
20. Мэримонт, младший, Дж. Н., и Р. М. Венц. 1966. Тестирование чувствительности антибиотика серийного разведения по микротитровальной системе. Клин. Пат. 45:548.
21. Маккэйб, В. Р., и Г. Г. Джексон. 1965. N. Инженер Дж. Медиана 272:1037.
22. Методы для Тестов Восприимчивости Антибактериального препарата Разбавления Бактерий. 2003. Одобренный Стандарт 7-А6. Национальный комитет Клинических Лабораторных Стандартов, Уэйн.
23. Мушер С. М., Дж. Н. Минут, С. В. Торстейнссон, и Т. Холмс. 1975. Эффективность достижимых мочевых концентраций тетрациклинов против "стойких к тетрациклину" патогенных бактерий. 131:S40.
24. Стэми Т. А., В. Р. Фейр, М. М. Тимоти, М. А. Миллер, Г. Михэра, и Й. С. Лоури. 1974. Сыворотка против мочевых антибактериальных концентраций в лечении от инфекций мочевых путей. Медиана 291:1159.
25. Стэми Т. А., Д. Е. Говэн, и Дж. М. Палмер. 1976. Локализация и обработка инфекций мочевых путей: роль бактериальных уровней мочи в снижении уровня сыворотки. Медицина. 44:1.
26. Сварцберг, J. E. 1987. Антимикробный Руководящий принцип Терапии 4-ая редакция, MicroScan, Западный Сакраменто.
27. Тилтон, Р. С., и Л. Ньюберг. 1974. Стандартизация теста восприимчивости микроразбавления, стр. 77. В А. Бэлоус (редактор). Текущие Методики для Антибактериального Тестирования Восприимчивости. С. С. Томас, Спрингфилд.
28. Тилтон, Р. С., Л. Либермэн, и Е. Н. Джерлак. 1973. Тест восприимчивости антибиотика микроразбавления: экспертиза определен. переменных. Прикладная Микробиол.. 26:5, 658.
29. Терк, М., Р. Линдемейер, и Р. Петерсдорф. 1963. Сравнение единственного диска и методик пробирочн.разбавления в

определении антибиотической чувствительности болезнетворных организмов. Энн Инт. М. 58:56.

30. Вашингтон, Дж. А., Е. Уоррен, и А. Г. Карлсон. 1973. Стабильность стандартов мутности барита. Прикладная Микробиол. 24:6, 1013.

31. Всемирная организация здравоохранения. Стандартизация методов проведения микробных тестов чувствительности. Второй Отчет Опытного Комитета по Антибиотикам. , стр. 1. Женева, 1961.

32. Стандарты Работы для Антибактериального Тестирования Восприимчивости. 2003. Документ НККЛС M100-S. Национальный комитет Клинических Лабораторных Стандартов, Уэйн.

Гарантийные обязательства

Данные продукты должны функционировать так, как это описано на соответствующих этикетках и в сопроводительных информационных материалах от MicroScan, при условии соблюдения всех эксплуатационных требований. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА НЕ ВЫХОДЯТ ЗА РАМКИ УПОМЯНУТЫХ В ЭТОМ РАЗДЕЛЕ ОГРАНИЧЕНИЙ. DADE BEHRING INC. ОТРИЦАЕТ ЛЮБЫЕ ДРУГИЕ ПОДРАЗУМЕВАЕМЫЕ ГАРАНТИИ ПРИГОДНОСТИ ДЛЯ ПРОДАЖИ ИЛИ ГАРАНТИИ ПРИГОДНОСТИ ТОВАРА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕННОЙ ЦЕЛИ. Единственным обязательством и исключительной возможностью покупателя, выходящей за рамки наших гарантийных обязательств, может быть, на выбор Dade Behring Inc, ремонт или замена продукта. Ни при каком условии Dade Behring Inc не несет ответственности за любые непосредственные, случайные или не прямые повреждения, нанесенные при эксплуатации данного продукта.

Условные обозначения			
 Произведено	 EXP "Использовать до" дата в формате год-месяц-день	 Обратитесь к Инструкции	 Токсично
 Авторизованный представитель	 Температурные ограничения	 Легко воспламеняющийся	R22 Не глотать
 Медицинский диагностический прибор для использования в лабораторных условиях	 Маркировка Совета Европы	 Вызывает раздражение / Опасно	S24 Избегайте контакта с кожей
 Код партии	 Номер по каталогу	 Подвержено коррозии	S25 Избегайте попадания в глаза
			S46 При проглатывании, срочно обратитесь за мед. помощью и покажите данный контейнер или этикетку

Руководство по применению панелей для грам- позитивных микроорганизмов на анализаторах типа Walkaway, Autoscan

Предназначение

Предназначено для использования с обезвоженными грам-позитивными МПК/Комбо панелями MicroScan®, обезвоженными грам-позитивными комбо-панелями с точками освещения и обезвоженными грам-позитивными ID-панелями 2го типа.

Грамм. позитивные панели MicroScan® разработаны для определения чувствительности к антимикробным агентам и/или идентификации разновидностей быстрорастущих аэробных и факультативно-аэробных грам-позитивных кокков, некоторых видов прихотливых аэробных грам-позитивных кокков и *Listeria monocytogenes*. Информация, касающаяся обращения с прихотливыми стрептококками, приведена в разделе Ограничения процедуры.

Краткие данные

Данная методика является миниатюризацией теста на определение чувствительности к антибиотикам методом серийных разведений питательного бульона, путем его дегидратации. Различные антибактериальные агенты разбавлены в бульоне Мюллер-Хинтона с добавлением кальция и магния или иных дополнительных веществ до концентрации, представляющей клинический интерес.³⁰ К раствору оксациллина добавлен хлорид натрия.³⁰ Synergy тесты используют бульон фосфата декстрозы. Сульфаметоксазол и комбинация Триметоприма с Сульфаметоксазолом содержит фосфорилазу тимидина для уменьшения уровня тимидина. Microscan® индуцибельный Клиндамицин-тест разработан для определения индуцибельной резистентности *S.aureus* к клиндамицину. Microscan® индуцибельный Цефокситин-скрининговый тест разработан для выявления чувствительности *S.aureus* и *S.lugdunensis* к пеницилиназа-устойчивым беталактам. Результаты Цефокситин-скринингового теста учитываются после 16-20 часовой инкубации в лунках содержащих цефокситин в концентрации 4 мкг/мл питательной среды, лунки промаркированы CfxS, МПК Оксацилина определяют также в течение 16-20ч. После инокуляции и регидратации организма со стандартизированной суспензией и инкубации при 35°C в течение 16-20 часов* минимальная подавляющая концентрация (МПК) или

качественная восприимчивость (восприимчив, средневосприимчив, устойчив) для испытуемого организма определяется наблюдением самой низкой антибактериальной концентрации, свидетельствующей о подавлении роста.^{6, 7, 12-18, 20, 24, 26, 35-39} Для идентификации *Micrococcaceae*, *Streptococcaceae* и *Listeria monocytogenes* используются модификации обычных анализов и хромогенические тесты. Идентификация основана на обнаружении изменений pH фактора, использовании субстрата и новообразованиях в присутствии бактерицидных добавок после инкубации в течение 16-44 часов при температуре 35°C.^{8-11, 19, 22, 23}

Производство бета-лактамазы обнаруживается йодометрическим методом.^{6, 38}

ПРИМЕЧАНИЕ: Для панелей без лунки для бета-лактамазы (BL) может применяться β-лактамазный тест на основе нитроцефина.³⁰

*Точное определение резистентности требует увеличения времени инкубирования для следующих комбинаций организма и бактерицидов:

24 часа	Enterococci	Vancomycin
	Staphylococci	Oxacillin
24-48 часов	Enterococci	Streptomycin
		Synergy screen тест

Меры предосторожности

1. Для диагностического использования только в лабораторных условиях.
2. Соблюдайте асептические методики и установленные меры предосторожности относительно микробиологических опасностей при всех процедурах. Помните, что инокулированные панели содержат потенциально патогенные организмы.
3. Перед выбрасыванием все материалы должны быть обработаны в автоклаве.
4. В диагностических и терапевтических целях результаты этого теста должны всегда интерпретироваться в сочетании с данными истории болезни пациента, его клиническими данными и другой сопутствующей информацией.

Хранение

Хранить при температуре 2-25°C, при максимально разрешенном отклонении до 30°C. Средняя ежегодная температура не должна превышать 25°C. Допускаются кратковременные отклонения температуры, если средняя температура хранения при этом не превышает 25°C. Для оценки воздействия температурных отклонений на производительность изделия следует проводить тест контроля качества.

Повреждение изделия

Длительное несоблюдение рекомендуемых условий хранения может привести к потере потенциала бактерицидных добавок и обесцвечиванию биохимикатов. Не используйте изделие после истечения срока годности.

Забор и Подготовка Образцов

Нужные образцы должны быть собраны, транспортированы и помещены в первичную среду выделения согласно процедурам, рекомендуемым в *Руководстве Клинической Микробиологии*.¹

Процедура

Предоставленные материалы

Информацию о компонентах панели смотрите на ярлыке упаковки.

Необходимые, но не предоставленные материалы

0.5 Стандарт мутности сульфата барита McFarland

0.5 % N, N-Диметрил-альфа-нафтиламин, 30 мл (B1010-45A) или 250 мл (B1015-45)

0.8% сульфаниловая кислота, 30 мл (B1010-44A) или 250 мл (B1015-44)

10 мкл или 100 мкл пипеттер со сменными стерильными наконечниками или 10мклитровая калиброванная петля

5%-ый Альфа-нафтол, 30 мл (B1010-42A)

40%-ая Гидроокись калий, 30 мл (B1010-43A) или 250 мл (B1015-43)

Покрывающие лотки (B1010-56B)

Стандартное лабораторное оборудование

Набор D-инокулятора (B1013-4)

Инокуляционная вода, 3 мл (B1015-2)

Инокуляционная вода с PLURONIC® **, 25 мл (B1015-7)

Йодный реактив, 30мл (B1010-94)

Бланки отчетов для МПК (B1014-92) или точек осветления (B1014-47)

Микроразбавительный вывер (B1010-6)

Книга с кодами биотипов грам позитивов MicroScan® (B1010-46B)

Минеральное масло, 60 мл (B1010-40)

Минеральное масло, 250 мл - только для Приборов S/ WalkAway® и WalkAway® с заглушающей функцией (B1010-40A)

Панельные рабочие листы (используемые для записи считываемых результатов вручную)

Инокуляционная Система Prompt™*** (B1026-10D)

Организмы Контроля качества (Номера по каталогу можно найти в разделе Контроль качества этого руководства),

Бланки отчета по контролю качества

Пеницилиновый раствор (30000 ед./мл) (B1010-93)

Пептидаза, 30 мл (B1012-30B) или 250 мл (B1015-30)
Бульон поз. инокуляции, 0,5 мл (B101032A)
Бульон Тодда-Хьюитта, 4-5 мл
Набор пипетки для реактивов (B1013-12A)
RENOK® - Регидратор/Инокулятор (B1018-14) или эквивалентный
Измеритель мутности (B1018-66)
Смеситель
Этикетки со штриховыми кодами Системы WalkAway® (B1011-16 или B1018-129)
Крышки лотков WalkAway® (B1018-18)

План Процедуры

А.Подготовка панели

1. Достаньте из контейнеров для хранения панели, которые планируете использовать. Панели не должны использоваться, если целостность упаковки вызывает сомнение (распечатана, проколота или порвана).
2. Разрежьте пакет и достаньте панель. При хранении в холодильном устройстве сразу же достаньте панель из фольгового мешочка.
3. Панели не должны использоваться, если имеет место любое из следующих условий:
 - а. обезвоживатель отсутствует или сломан
 - б. лунки панели обесцвечены (например, РНО, различные бактерицидные препараты)
4. Позвольте панелям достичь комнатной температуры перед регидратацией. Панели могут быть сложены друг на друга при наличии сверху чистого покрывающего лотка. Все открытые панели должны использоваться в течение одного дня, либо выброшены.

В.Подготовка инокулянта

(ПРИМЕЧАНИЕ: См. Ограничения Процедуры, пункты 9 и 10),
НККПС рекомендует периодически проверять плотность инокулянта, проводя подсчет колоний. Обращайтесь к документу НККПС М7-А6.³⁰
Ожидаемые результаты должны вплотную приближаться к 5×10^5 CFU/ml.

1. Методика стандарта мутности – Основной инокуляционный метод

Методика стандарта мутности рекомендуется для прямого прививания всех аэробных грам-отрицательных бацилл.

- а. Используя стерильный деревянный аппликатор или бактериологическую петлю, коснитесь поверхности 4-5ти больших или 5-10ти малых морфологически подобных, хорошо изолированных колоний с 18-24часовых неподавленных агаровых пластин.
- б. Эмульгируйте в 3 мл инокуляционной воды (обработанная в автоклаве дистиллированная вода). Конечная мутность должна быть

эквивалентной 0.5 Стандарту Мутности сульфата бария Макфарланда. Такая же оптическая плотность может быть получена при использовании MicroScan® Turbidity Meter при показателях 0,08+-0,02. Плотно закройте крышку.

с. Размешивайте суспензию 2-3 секунды.

d. Добавьте пипеткой 0.1 мл (100 мкл) стандартизированной суспензии в 25 мл инокуляционной воды с PLURONIC. Плотно закройте крышку. Проинвертируйте 8-10 раз, чтобы смешать раствор.

2. Система Prompt. Быстрый метод

Быстрая методика может использоваться для инокуляции более быстрорастущих грам-положительных бактерий. Используйте Инструкцию по процедуре быстрой инокуляции для корректного использования этой методики.

Примечание:

Использовать с осторожностью. Недостаточное прививание может встречаться у организмов, которые не отвечают требованию по размерам, и может вызывать некорректные результаты по восприимчивости и идентификации. Кроме того, индексы колонии стафилококка могут завышаться при использовании Быстрого метода и могут быть больше, чем ожидаемые диапазоны НККЛС. Завышенные индексы колонии могут неблагоприятно воздействовать на антибиотические результаты, на которые влияет инокуляционная процедура. Обратитесь к разделу Ограничения процедуры в случае работы с антимикробными препаратами, которые, как известно, зависимы от процедуры прививания.

3. Методика лог- фазы

Методика лог-фазы, при которой перед разбавлением до желательной концентрации бактериальная суспензия приводится к мутности, эквивалентной 0.5 Стандарта мутности сульфата бария Макфарланда. Рекомендуется для менее быстрорастущих бактерий или для образцов, приносимых в конце дня.⁴⁰

a. Используя стерильный деревянный аппликатор или бактериологическую петлю, коснитесь поверхности 4-5ти больших или 5-10ти малых морфологически подобных, хорошо изолированных колоний с 18-24часовых неподавленных агаровых пластин.

b. Эмульгируйте в 4 мл бульона Тодда-Хьюитта и ингибируйте при 35°C в течение 2-4 часов. Это и называется лог-фазой бактериальной суспензии.

с. После и перед инкубацией панели перемешайте суспензию по 2-3 секунды.

d. Используя бульон Тодда-Хьюитта, разбавьте лог-фазовую суспензию до мутности, эквивалентной 0.5 стандарта Макфарланда.

е. Добавьте пипеткой 0.1 мл (100 мкл) стандартизированной суспензии к 25 мл инокуляционной воды с PLURONIC. Закройте плотно крышкой. Инvertируйте 8-10 раз, для смешивания.

*Поверхностно-активные вещества PLURONIC®, зарегистрированная торговая марка корпорации BASF, Парсиппани, Нью-Джерси США

** 3М, Сент Пол, Миннесота США.

4. Методика постоянной фазы

Работа обновленной системы идентификации не была отлажена под метод постоянной фазы. Инокулят должен готовиться методом Мутности, Быстрым методом или методом Лог-фазы.

Методика постоянной фазы может использоваться для быстрорастущих грам-положительных бактерий. Для определения стафилококков, устойчивых к метициллину, рекомендуется использовать технику стандарта мутности.

а. Используя стерильный деревянный аппликатор или бактериологическую петлю, коснитесь поверхности 4-5ти больших или 5-10ти малых морфологически подобных, хорошо изолированных колоний с 18-24часовых неподавленных агаровых пластин.

б. Эмульгируйте колонии в 0.5 мл Поз.-инокуляционного бульона (бульона Тодда-Хьюитта). Закройте плотно крышку.

с. Перемешайте суспензию в течение 2-3 секунд.

д. Откройте крышку пробирки и инкубируйте в течение 4-6 часов при температуре 35°C.

е. После и перед инкубацией панели перемешайте суспензию по 2-3 секунды.

ф. Если бульон после инкубации мутен, добавьте 0.01 мл (10 мкл) суспензии в 25 мл инокуляционной воды с PLURONIC. Закройте плотно крышку. Инvertируйте пробирку 8-10 раз, чтобы раствор хорошо перемешался.

г. Если бульон не мутнеет после 6 часов инкубирования, продолжите инкубировать еще 12-18 часов перед тем, как привить панель. Либо используйте методику стандарта мутности.

h. Если после 12-18 часов инкубирования бульон помутнел, проинкубируйте 25 мл инокуляционной воды с PLURONIC, как указано в пункте "f" выше.

С. Регидратация/инокуляция панели

Регидратация и прививание выполняется при помощи системы RENOK® и D-инокуляторов (B1013-4). Пользуйтесь Руководством оператора системы RENOK®. При использовании альтернативной системы регидрируйте с 115 мкл $\pm$ 10 мкл инокуляционной воды (PLURONIC). Конечная концентрация лунки должна быть $3\text{--}7 \times 10^5 \text{CFU/ml}$. Чтобы гарантировать жизнеспособность и чистоту

тестируемого организма, следует приготовить чашу беспримесности путем впрыскивания инокулята на пластинку с кровавым агаром и последующим культивированием в течение 16-20 часов. Если на чаше беспримесности присутствуют два или больше типа колоний, повторно выделите колонии и проведите анализ.

D. Биохимические слои

1. Используя бутылочку с дозатором, нанесите три капли минерального масла на ARG и URE. (Эти лунки подчеркнуты на панели).

2. Среда в лунках должна быть полностью покрыта слоем минерального масла, но оно не должно переполнять лунки.

ПРИМЕЧАНИЕ: приборы WalkAway® SI (и прибор WalkAway®, модернизированный автоматизированной функцией нанесения слоя масла) автоматически добавляют масло к соответствующим лункам.

E. Инкубация

1. Чтобы гарантировать равномерное тепловое распределение во время инкубации, ставьте панели друг на друга в группах по 3-5 штук.

2. Чтобы предотвратить испарение, поместите сверху каждой группы панелей чистый покрывающий лоток. Лотки можно использовать повторно. Для очистки лотков не применяйте спиртосодержащие вещества. Они могут быть очищены с мылом и водой. Их следует хорошо промыть и высушить.

3. Инкубируйте панели в течение минимум 16 часов при температуре 35°C в неуглекислотном термостате.

H. Показания панелей

Панели могут читаться вручную с помощью микрорастворного вьювера MicroScan® и результатов, записанных на рабочих листах панелей, либо на MicroScan® инструментари (touchSCAN®-SR, autoSCAN®-4 и системы WalkAway®). Обращайтесь к соответствующему Руководству оператора за информацией по MicroScan® инструментарию.

1. После 16-20 часов инкубации достаньте панели из термостата

2. Вытрите дно панели подходящей для этого тканью, чтобы удалить конденсат или остатки вещества.

3. Считывайте панели, только если лунка роста замутнена. Не считывайте результаты по антибактерицидам, если контрольная лунка мутна или если в лунке роста нет никаких новообразований. Рост в антимикробных лунках проявляется в виде мутности, которая может принимать форму белой мутности по всей лунке, белой кнопки в центре лунки или тонко-зернистого новообразования по всей лунке. Неадекватный рост или его отсутствие проявляется в виде небольшой белизны в лунке или чистоты бульона.

4. Если результаты считываются вручную, запишите их на соответствующем рабочем листе.

5. Показания шкалы антимикробной восприимчивости (показатели МПК)

а. Считывайте все антимикробные вещества, CV, MS, NOV, OPT, NACL и BAC напротив темного (косвенно освещенного) фона.

б. Проведите бета-лактамазный тест на стафилококки. Процедура описана в разделе 6f.

ПРИМЕЧАНИЕ: Для панелей без лунки для бета-лактамазы (BL) может применяться β -лактамазный тест на основе нитроцефина.³⁰

с. Записывайте результаты проверки Восприимчивости/ Точек осветления следующим образом:

1) Результаты МПК

а) После 16-20 часов инкубации, запишите МПК с последней лунки, показывающей процесс ингибирования роста, начиная с самой высокой концентрации.

б) Когда рост отмечается при всех концентрациях антимикробного вещества, МПК записывается как большая (>), чем самая высокая концентрация.

с) Когда рост не происходит ни при одной из концентраций бактерицида, МПК записывается как меньшая, чем или равная ($\leq$) самой низкой концентрации.

д) Чистая лунка в серии лунок роста, например, лунка с новообразованиями при 1, 2 и 8 мкг/мл, но не при 4 мкг/мл, называется пропускаемой лункой и её данные следует игнорировать

2) Результаты по точкам осветления

а) Если после 16-20 часов инкубации роста в антимикробной среде не наблюдается, то это записывается как "S" (Восприимчивый).

б) Рост при более низкой концентрации бактерицида, но не при более высокой концентрации, записывается как "I" (Промежуточный).

с) Рост при обеих концентрациях антимикробного вещества или в единственной лунке регистрируется как "R" (Устойчивый).

д) Если при более высокой концентрации бактерицида рост отмечается, а при более низкой концентрации его нет, это может означать, что лунка загрязнена и тест следует повторить.

3) Рост пятна в привитых лунках свидетельствует о загрязнении. Тест следует повторить.

4) Для стафилококков с оксациллином любое новообразование считается важным.

5) Точное определение сопротивления требует увеличения времени инкубирования для следующих комбинаций организма и бактерицидов:

<u>Инкубирование</u>	<u>Организм</u>	<u>Бактерициды</u>
24 часа	Enterococci Staphylococci	Vancomycin Oxacillin
24-48 часов	Enterococci	Streptomycin Synergy тест

24-инкубация не обязательна для *S.aureus* и *S.luqduensis* при инкубации на панелях с цефокситин-скрининговой лункой.

6) Ампициллин и пенициллин считаются устойчивыми ко всем стафилококкам с МПК пенициллина больше 0,12 мкг/мл, либо тем, которые бета-лактамаза позитивны.³⁰

7) Для панелей, содержащих только Оксациллин: Стафилококки считаются устойчивыми к ампициллину, амоксициллину с К Клавуланатом, ампициллину с сульбактамом, тикарциллину с К клавуланатом, имипенему, меропенему, пенициллину, пиперациллину с тазобактамом, тикарциллином с К клавуланатом и цефалоспориновым антимикробным препаратам (независимо от уровня МПК), при условии что МПК оксациллина больше 2 мкг/мл для *S. aureus* и *S.luqduensis* больше или равно 0,5 мкг/мл для коагулазнегативных стафилококков других видов.

8) Для панелей, содержащих и оксациллин и цефокситин-скрининговую лунку(CfxS):Стафилококки считаются устойчивыми к ампициллину, амоксилину с К-клавуланатом, ампициллину с сульбактамом, эртапенему, имипенему меропенему, пенициллину, пиперациллину с тазобактамом, тикарциллину с К-клавуланатом и цефалоспориновым антибиотикам (независимо от МПК) когда CfxS больше 4 мкг/мл или МПК оксациллина больше или равно 0,5 мкг/мл для других коагулазнегативных стафилококков.

9)Для лунок, содержащих аминогликозиды (например, гентамицин) и макролиды (например, эритромицин) рост не может быть таким же сильным, как в контрольных лунках роста, из-за различий в базовой среде. Результаты следует интерпретировать с надлежащей осторожностью.

10) "Тянущийся эффект" может наблюдаться при некоторых комбинациях лекарственного средства/организма. Смещение может наблюдаться при комбинации триметоприма/сульфаметоксазола (T/S,) и сульфаметоксазола (Sx) при использовании регидратационно-инокуляционной системы RENOK® и зависит от концентрации инокулята. Конечная точка является самой низкой концентрацией, которая при сравнении с лункой роста дает такие результаты:

а) приблизительно 80%-ое сокращение роста (T/S, Sx)

б) белая кнопка меньше 2 мм в диаметре, или

с) полупрозрачная белая кнопка.¹

11) легкое замутнение может наблюдаться у фторхинолоновых бактерицидных препаратов (например, ципрофлоксацин,

норфлоксацин, офлоксацин) при использовании Быстрого метода инокуляции и у стафилококков, включая такой организм контроля качества, как *S. aureus* ATCC 29213. Этот процесс не является ростом. 12) если организм не дает новообразований в лунке Свободного Тимидинового Роста (TFG), следует использовать МПК для T/S и Sx.

6. Показание идентификационных субстратов

а. «Читайте» все идентификационные субстраты на белом фоне за исключением CV, MS, NOV, OPT, NACL и BAC, которые должны читаться на черном (косвенно освещенном) фоне.

б. Результаты IDX, PHO и BL записываются после 16-20 часов инкубации.

ПРИМЕЧАНИЕ: Для панелей без лунки для бета-лактамазы (BL) может применяться β -лактамазный тест на основе нитроцефина.³⁰

с. Панели с отрицательным PGT и количеством позитивных углеводов менее трех должны быть повторно инкубированы в течение 24 часов перед окончательным считыванием результатом и идентификацией.

д. Добавлять реагенты через 16-20 часов следует лишь в те панели, которые будут содержать 3 углевода или показывать положительную PGT реакцию. Через 40-44 часа реагенты должны добавляться независимо от количества положительных результатов тестов.

Типичные Индикаторы

Контрольная лунка чиста; большая кнопка в лунке роста.

Типичные кнопки роста в колонках 1 и 2;

Колонка 2 демонстрирует "пропуск" в лунках роста, которые должны быть проигнорированы.

Эта единственная кнопка в колонке 3, граничащая с чистой лункой сверху и снизу, указывает на загрязнение пятна и должна быть проигнорирована.

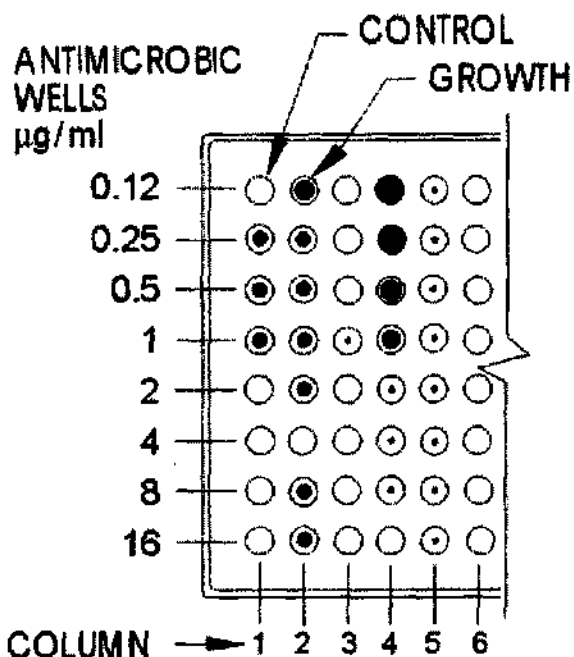
МПК в колонке от 1 = 2 мкг/мл (самая низкая концентрация чистой лунки).

МПК в колонке 2 ≥ 16 мкг/мл (рост во всех лунках).

МПК в колонке 3 = ≤ 0.12 мкг/мл (роста нет ни в одной лунке).

МПК в колонке 4 = 2 мкг/мл (Тянущийся эффект в лунках 2-8; типичный тянущийся эффект T/S).

МПК в колонке 5 = ≤ 0.12 мкг/мл



ANTIMICROBIC WELLS=лунки с бактерицидами
CONTROL=контроль
GROWTH=рост
COLUMN=колонка

(Тянущийся эффект во всех лунках, таким образом МПК $\leq$. Это типично для некоторых комбинаций антимикробных веществ и организмов). МПК в колонке 6 = $\leq 0.12 \mu\text{г/мл}$	
---	--

е. Перед добавлением реагентов запишите все положительные реакции.

ф. Добавляйте реактивы следующим образом:

1) Если речь идет о стафилококке, проведите тест бета-лактамазы. Добавьте одну каплю раствора пенициллина (30000 ед./мл) в лунку BL. Перемешайте аппликатором. Инкубируйте 30 минут при температуре 35°C. После инкубирования добавьте 1 каплю лодин-реагента и перемешайте аппликатором. Считывайте результаты через пять минут.

ПРИМЕЧАНИЕ: Для панелей без лунки для β -лактамазы (BL) может применяться β -лактамазный тест на основе нитроцефина.³⁰

2) Добавьте 1 каплю 40%-ой гидроокиси калия (KOH) и 1 каплю 5%-ого альфа-нафтола в лунку VP. Подождите по крайней мере 20 минут, пока будет происходить VP реакция.

3) Добавьте 1 каплю 0.8 % сульфанилической кислоты и 1 каплю 0.5 % N, N-диметил-альфа-нафтиламина в лунку NIT. Подождите по крайней мере 5 минут, чтобы развилась реакция.

4) Добавьте две капли пептидазы к лунке PYR. Подождите 2 минуты, чтобы произошла реакция.

г. За помощью в биохимической интерпретации обратитесь к разделу РЕЗУЛЬТАТЫ.

Контроль качества

Приемлемость идентифицирующей среды и бактерицидных добавок должна быть проверена путем тестирования организмов с известными реакциями и диапазонами МПК. Результаты для рекомендуемых Американской коллекцией типовых культур (АКТК*) контрольных организмов перечислены в следующей таблице.

Таблица контроля качества (КК) – это комплексная таблица, которая включает диапазоны для всех растворов обезвоженных панелей MicroScan®. Возможно, потребуется экстраполироваться от Таблицы КК, основанной на определенном типе панели. Ниже приведены примеры для экстраполяции.

* Американская коллекция типовых культур, Манасас, Вирджиния США

Организм контроля качества	Аббр.	Конечн.точка таблицы КК	Раствор(ы) на панели	Экстраполир. диапазон КК
<i>E. faecalis</i> 29212	ATCC Gm	4->8	1-4, 6	4, 6->6
<i>E. faecalis</i> 29212	ATCC Ox	4->4	0.5-2	>2
<i>E. faecalis</i> 29212	ATCC Tim	8->8	8	≤8->8
<i>S. aureus</i> 29212	ATCC P/T	≤1-2	4-8	≤4

Таблица контроля качества обезвоженного грам-позитива

Антимикробный препарат	Аббр.	Диапазон для <i>E. faecalis</i> ² ATCC 29212 (B1010-22A)		Диапазон <i>S. aureus</i> ² ATCC 29212 (B1010-23B)	
		МПК	ТО	МПК	ТО
Амикацин	Ak	32->32	32->32	≤16	≤16
Амоксицилин / Клавуланат ⁴	K Aug	≤2/1	≤4/2	≤2/1	≤4/2
Ампициллин	Am	0.25-1	≤0.25, 2	≥0.5	≥0.5
Ампициллин / Сульбактам ⁵	A/S	≤4/2	≤8/4	≤4/2	≤8/4
Азитромицин	Azi	Н/П	Н/П	---	≤2
Цефамандол	Cfm	---	Н/П	---	≤8
Цефазолин	Cfz	Н/П	Н/П	≤2	≤8
Цефдинир	Cdn	Н/П	Н/П	≤1	≤1
Цефепим	Cpe	16->16	16->16	≤2-4	≤8
Цефотаксим	Cft	Н/П	Н/П	≤4	≤8
Цефтизоксим	Cz	Н/П	Н/П	---	≤8
Цефтриаксон	Cax	Н/П	Н/П	≤4	≤8
Цефуросим	Crm	Н/П	Н/П	≤2	≤4
Цефалотин	Cf	Н/П	Н/П	≤2	≤8
Хлорамфеникол	C	4-8	≤8	4-16	≤8-16
Ципрофлоксацин	Cp	≤1	≤1	≤0.25-0.5	≤1
Кларитромицин	Cla	Н/П	Н/П	≤0.25-0.5	≤0.25-0.5
Клиндамицин	Cd	>2	>2	≤0.25-0.5	≤0.5
Даптомицин	Dap	1-4	>1,4	≤0.25-1	≤1
Эртапенем	Etp	4->4	4->4	≤2	≤2
Эритромицин	E	1->4	4->4	≤0.25-1 ³	≤0.5, 4
Гатифлоксацин	Gat	≤0,5-1 ⁸	≤2 ⁸	≤0,5 ⁹	≤2 ⁹
Гентамицин	Gm	4->8	≤4->8	≤1 ³	≤4

Гентамицин	GmS	≤500	≤500	Н/П	Н/П
Synergy тест					
Имипенем	Imp	≤1-2	≤4	≤1	≤4
Левифлоксацин	Lvx	≤0.5-2	≤2	≤0.5	≤2
Линезолид	Lzd	1-4	≤2-4	1-4	≤2-4
Меропенем	Mer	2-8	≤4-8	≤1	≤4
Моксифлоксацин	Mxf	≤0.5 ⁸	≤2 ⁸	≤0.5	≤2
Нитрофурантоин	Fd	≤32	≤32	≤32	≤32
Норфлоксацин	Nxn	≤4	≤4	≤4	≤4
Офлоксацин	Ofl	≤2-4	≤2-4	≤2	≤2
Оксациллин	Ox	>2	>2	≤0.25-0.5	≤1
Пенициллин	P	0.5-2	0.5, 2	≥0.25	≥0.25
Пиперациллин	/ P/T	≤1-4	≤8	≤1-2	≤8
Тазобактам					
Рифампин	Rif	≤1	≤1	≤1	≤1
Спарфлоксацин	Sfx	---	≤0.5	---	≤0.5
Стрептомицин	StS	≤1000	≤1000	Н/П	Н/П
Synergy тест ⁷					
Сульфаметоксазол	Sx	≤256- >256	≤256- >256	≤256- >256	≤256- >256
Синеркид	Syn	2->2	2->2	≤0.25-1	≤1
Тетрациклин	Te	4-8, 128	≤4->8	≤1	≤4
Тикарциллин	/ K Tim	8->8	≤8->8	≤1	≤8
Клавуланат					
Триметоприм	/ T/S	≤0.5/9.5	≤2/38	≤0.5/9.5	≤2/38
Сульфаметоксазол					
Ванкомицин	Va	≤1-4	≤2-4	0.5-2	≤2

1. Диапазон = Ожидаемое значение (мкг/мл)

2. Диапазон некоторых бактерицидов не согласовывается с Допустимыми диапазонами контроля качества НККЛС, перечисленными в Таблице 3 из Документа НККЛС M100-S12.

3. Только для метода постоянной фазы, лог-фазы и методики мутности. Эритромицин и гентамицин должны использоваться при Быстрой системе инокуляции, только если МПК эритромицина ≤0.5-2, а МПК гентамицина ≤1-2.

4. Дополнительная конечная точка 4/2-16/8 может быть получена для *E. coli* ATTC 35218 (B1013-65).

5. Дополнительная конечная точка 8/4-32/16 может быть получена для *E. coli* ATTC 35218 (B1013-65).

6. Дополнительная конечная точка >500 может быть получена для *E. faecalis* ATTC 51299 (B1013-76).

7. Дополнительная конечная точка >1000 может быть получена для *E. faecalis* ATTC 51299 (B1013-76).

8. Организм предназначен только для контроля качества.

9. Результаты при использовании Быстрой системы инокуляции, выпадающие за пределы диапазона, могут свидетельствовать о слишком

сильной концентрации инокулята. Повторите процедуру, внимательно контролируя плотность инокулята.

Таблица контроля качества для Грам поз. Панелей с лунками CfxS и индуцибельным клиндамицином

Тест	Aббp	S.aureus ATCC 29212 Мкг/мл	S.aureus ATCC 43300 мкг/мл	S.aureus BAA-977 мкг/мл
Цефокситин скрин CfxS		≤4	>4	N/A
Индуцибельный ICd клиндамицин		≤4/0.5	N/A	>4/0.5

Таблица контроля качества для идентифицирующих субстратов для обезвоженных грам-позитивов

	S. <i>aureus</i> ATCC ¹ 29213 B1010- 23B	E. <i>faecalis</i> ATCC 29212 B1010- 22A	S. <i>bovis</i> ATCC 49147 B1010- 28E	M. <i>luteus</i> ³ ATCC 49732 B1010- 28G	
CV	-	+	Н/П	Н/П	1. Американская коллекция типовых культур, Манассас, Вирджиния США 2. Данные о дополнительных положительных или отрицательных реакциях для каждого биохимиката смотрите в Таблице дополнительного тестирования 3. <i>M. luteus</i> ATCC 49732, считанный с помощью инструментария MicroScan® после 16-18 часов инкубирования, может показать N/R в разделе МПК отчета контроля качества. Это не влияет на результаты контроля качества идентифицирующих субстратов, вне зависимости от времени считывания. 4. Не реализовано в Системе Управления Данными версии 23.05 или более ранней 5. Может потребоваться 24-часовое инкубирование
MS	+	+	+	-	
NIT	+	-	-	Н/П	
NOV ²	-	Н/П	-	Н/П	
PGR ²	-	-	-	Н/П	
IDX	+	Н/П	Н/П ⁴	- ⁴	
VP	+	+	+	-	
OPT ²	+	+	+	Н/П	
PHO	+	Н/П	-	Н/П	
BE	-	+	+	Н/П	
PYR	Н/П	+	-	Н/П	
ARG	+	+	-	Н/П	
PGT	+	+	+	-	
URE	+ ⁵	-	-	Н/П	
MAN	+	+	+	-	
LAC	+	Н/П	+	-	
TRE	Н/П	+	+	-	
MNS	Н/П	+	+	-	
NACL	Н/П	+	-	Н/П	
SOR	Н/П	+	-	Н/П	
ARA ²	Н/П	-	-	Н/П	
RBS	Н/П	+	-	Н/П	

INU	Н/П	-	+	Н/П
RAF	Н/П	-	+	Н/П
BAC ²	Н/П	+	+	Н/П
PRV	Н/П	+	-	Н/П
BL ⁶	+	Н/П	Н/П	-
TFG ²	+	+	+	Н/П

Н/П=не применимо
ПРИМЕЧАНИЕ: Организмы контроля качества отобраны, чтобы давать положительную / отрицательную реакцию на все идентифицирующие субстраты. Как следствие, идентификация организма может отличаться от приведенной в таблице КК. Приемлемость работы изделия определяется сравнением результатов анализа, не идентификацией.

Таблица «Дополнительный тест»

Организм	Субстрат	Ожидаемое значение
<i>S. saprophyticus</i> ATCC 49907 (B1013-74)	NOV	+
<i>S. xylosus</i> ATCC 49148 (B1013-30A)	PGR	+
		-
		-
<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49136 (B1013-38A)	OPT	-
	BAC	-
<i>E. avium</i> ATCC 49464 (B1013-49A)	ARA	+
<i>E. coli</i> ¹ ATCC 51755 (B1013-79)	TFG	-

1. TFG результат для этого штамма должен считываться вручную и считаться отрицательным, если наблюдается легкая мутность, прозрачное кольцо или кнопка.

Результаты

А. Биохимические результаты

1. Биохимические интерпретации

Лунка	Реагент	Положительная	Отрицательная
CV, MS, NOV, OPT, NACL, BAC		Рост	Нет роста
NIT	Добавьте 1 каплю 0.8% сульфанилической кислоты, а затем 1 каплю 0.5% N, N-диметил-альфа-нафтиламина. Подождите по крайней мере 5 минут, чтобы развилась реакция.	От розового до красного	Прозрачный (бесцветный) Возможен очень бледный розовый
PGR PHO PGT	Любой оттенок желтого должен интерпретироваться как положительная реакция. Используйте лунку NOV в качестве отрицательного контроля	Желтый	Прозрачный (бесцветный)
IDX		От синего до серого осадка	Прозрачный (бесцветный) или белый осадок
VP	Добавьте 1 каплю 40% КОН, после чего 1 каплю 5% альфа нафтола. Подождите хотя бы 20 минут, чтобы развилась реакция.	От розового до красного	От прозрачного (бесцветного) до коричневого, Может быть непрозрачным или очень бледного розового цвета
BE		От <u>темного</u> коричневого до черного	От прозрачного (бесцветного) до слегка коричневого
PYR	Добавьте 2 капли пептидазы. Подождите 2 минуты, чтобы произошла реакция	От красно-оранжевого до красного	От желтого до оранжево-красного
ARG		От розово-оранжевого до розового	От желтого до оранжевого

RAF, TRE, SOR, RBS, MAN, PRV	LAC, MNS, ARA, INU,	Малейший намек на оранжевый следует считать отрицательной реакцией	Желтый	От оранжевого до красного
BL*	Добавьте одну каплю раствора пенициллина. Инкубируйте 30 минут. Добавьте одну каплю лодин-реагента. Запишите результаты через пять минут.		Бесцветный	Черный
HEM			Бета	Альфа Гамма или
LOC	Только для использования с панелями систем autoSCAN®-4 и WalkAway®			

*ПРИМЕЧАНИЕ: Для панелей без лунки для β -лактамазы (BL) может применяться β -лактамазный тест на основе нитроцефина.³⁰

2. Принципы идентификационных реакций

Кристаллический фиолетовый (CV): Рост в присутствии низкой концентрации кристаллического фиолетового используется для дифференциации стрептококка (положит.) от стафилококка (обычно отриц.).

Микрококковый тест (MS): Рост в присутствии низкой концентрации бацитрацина (0,05 мкг/мл) используется для дифференциации стафилококка (позит.) от микрококки (отриц.).

Нитрат (NIT): Способность организма восстановить нитрат до нитрита обнаруживается дообавлением 0,8% сульфанилической кислоты и 0,5% N, N-диметил-альфа-нафтиламина, что дает красный цвет. Стрептококк дает отрицательный результат, в то время как большинство стафилококков – положительный.

Новобиоцин (NOV): Некоторым стафилококкам свойственна устойчивость к низким (1,6 мкг/мл) концентрациям новобиоцина.

Гликозидазы (PGR, PGT): Способность организма производить специфический фермент гликозидазы определяется расщеплением р-нитрофенил-углеводного комплекса, при котором выделяется желтый р-нитрофенил.

Индоксил фосфатазы (IDX): Гидролиз индоксил фосфатазы ферментом индоксил фосфатазы приводит к образованию нерастворимой синей смеси. Большинство коагулазов и Dnase-положительных стафилококков дают положительную реакцию на IDX.

Voges-Proskauer (VP): Ацетилметилкарбинол, получаемый из глюкозы, вступает в реакцию с 40%-ой гидроокисью калия и 5%-ным альфа-нафтолом, окрашиваясь в красный цвет.

Оптоцин (OPT): Восприимчивость к оптоцину свойственна *Streptococcus pneumoniae*. Другие стрептококки и стафилококки не подавляются оптоцином.

Фосфатаза (PHO): Щелочная фосфатаза расщепляет р-нитрофенил фосфат на неорганический фосфат и р-нитрофенол желтого цвета.

Желчный эскулин (BE): Организмы, способные давать новообразования в 40%-ной желчи и гидролизующем эскулине, определяются выделением черного осадка в результате реакции на гидролитический продукт эскулетин с лимоннокислым железом. Положительную реакцию на BE дают стрептококки группы D, некоторые виридановые стрептококки и некоторые стафилококки.

Пирролидонил-β-нафтиламид (PYR): Организмы, производящие пирролидоназу, расщепляют L-пирролидонил-β-нафтиламид на L-пирролидонил и β-нафтиламид, который соединяется с пептидазой (р-диметил-аминоциннамальдегид), вызывая красный цвет.

Аргинин (ARG): Дегидратация аргинина приводит к подщелачиванию среды, что обнаруживается изменением цвета от желтого до красного в феноловом красном индикаторе.

Мочевина (URE): фермент уреазы раскалывает мочевино-формирующий аммиак. В результате увеличивается pH фактор, что обнаруживается феноловым красным индикатором.

Углеводы (RAF, LAC, TRE, MNS, SOR, ARA, RBS, INU, MAN): Ферментация определенного углевода приводит к формированию кислоты и снижению pH фактора, что обнаруживается изменением цвета фенолового красного индикатора на желтый.

6,5% хлорид натрия (NACL): Устойчивость к 6,5%-ному хлориду натрия свидетельствует о росте. Солевая переносимость используется для дифференциации энтерококков от неэнтерококков.

Бацитрацин (BAC): Восприимчивость к низким концентрациям бацитрацина проявляется слабым ростом и свойственна *Streptococcus pyogenes*.

Пируват (PRV): Применение пирувата приводит к образованию кислоты. Понижение pH-фактора определяется приобретением феноловым красным индикатором желтого цвета.

β-лактамаза (BL): Присутствие β-лактамазы демонстрируется добавлением пенициллина и лодина к BL лунке. Расщепление кольца β-лактама формирует вязкие участки, которые являются более конкурентоспособными для лодина, чем молекулы крахмала. Если β-лактамаза присутствует, то йод соединяется с кольцом β-лактама, формируя бесцветную реакцию. Если β-лактама отсутствует, то лодин соединяется с молекулами крахмала, вызывая сине-черный цвет.⁶

ПРИМЕЧАНИЕ: Для панелей без лунки для β -лактамазы (BL) может применяться β -лактамазный тест на основе нитроцефина.³⁰

Гемолиз (HEM): Производимые стрептококком стрептолизины S и O вызывают частичный или полный лизис ячеек красной крови в агаросодержащей овечьей крови.

3. Идентификация Организма

Для идентификации неизвестных организмов используется Книга с кодами биотипов грам-позитивов MicroScan®. Эта книга была создана на основе собственной базы данных MicroScan. Грам-положительная книга с кодами позволяет проводить компьютерный анализ 27 тестов на стрептококк и 18 тестов на микрококк. Результаты тестов переводятся в 9ти- или 6-цифренный номер биотипа соответственно. Обращайтесь к Книге кодов, чтобы узнать больше о процедуре регистрации результатов. Книга с кодами содержит идентификационные данные организмов и показатели относительной вероятности. Все величины вероятности приводятся в порядке от самой высокой до совокупной общей 99.9 %. В книге есть два раздела: *Micrococcaceae* и *Streptococcaceae*.

Если число биотипа не находится, следует исключить ошибку в проведении процедуры. Если повторное тестирование дает тот же результат, сообщите номер биотипа по телефону в службу поддержки MicroScan®.

В. Интерпретация результатов МПК

Восприимчивость определяется сравнением МПК организма с достижимым уровнем крови или мочи антимикробного препарата. Следующая таблица перечисляет критерии интерпретации, рекомендованные НККПС. Некоторые из них отличаются от интерпретирующих точек осветления изготовителя, перечисленных в Настольном справочнике врача, издания 1997 года.

Интерпретирующие точки осветления*

Антимикробные агенты	Чувствительный	Промежуточный	Устойчивый
Амикацин-стафилококк	≤ 16	32	≥ 64
Амоксициллин / К Клавуланат-стафилококк	$\leq 4/2$	--	$\geq 8/4$
Ампициллин			
Стафилококк	$\leq 0,25$	--	$\geq 0,5$
<i>L. monocytogenes</i>	≤ 2	--	≥ 4
<i>Enterococci</i>	≤ 8	--	≥ 16
β -гемолитический стрептококк ^{3,4}	$\leq 0,25$	--	--
	$\leq 0,25$	0,5-4	≥ 8

Стрептококки Viridans-группы²

Ампициллин / сульбактам-стафилококк	≤8/4	16/8	≥32/18
Азитромицин			
Стафилококк	≤2	4	≥8
Стрептококк ^{2, 3}	≤0,5	1	≥2
Цефамандол ¹ - стафилококк	≤8	16	≥32
Цефазолин ¹ - стафилококк	≤8	16	≥32
Цефдинир- стафилококк	≤1	2	≥4
Цефепим ¹ - стафилококк	≤8	16	≥32
Цефотаксим ¹			
Стафилококк	≤8	16-32	≥64
Стрептококк ^{2, 3}	≤0,5	1	≥2
Цефтизоксим-стафилококк	≤8	16-32	≥64
Цефтриаксон ¹			
Стафилококк	≤8	16-32	≥64
Стрептококк ^{2, 3}	≤0,5	1	≥2
Цефуроксим аксетил (оральный)- стафилококк	≤4	8-16	≥32
Цефуроксим натрия (парентеральный)- стафилококк	≤8	16	≥32
Хлорамфеникол			
Все грам-положительные организмы кроме			
стрептококков	≤8	16	≥32
Стрептококк ^{2, 3}	≤4	8	≥16
Ципрофлоксацин-стафилококк и энтерококк	≤1	2	≥4
Кларитромицин			
Стафилококк	≤2	4	≥8
Стрептококк ^{2, 3}	≤0,25	0,5	≥1
Клиндамицин			
Стафилококк	≤0,5	1-2	≥4
Стрептококк ^{2, 3}	≤0,25	0,5	≥1
Эртапенем			
Стафилококк	≤2	4	≥8
Только β – гемолитические стрептококки	≤1	1-4	≥8
Эритромицин		0,5	≥8
Все грам-положительные организмы кроме	≤0,5		≥1
стрептококков	≤0,25		
Стрептококк ^{2, 3}			

Гатифлоксацин-стрептококк	≤2	4	≥8
Гентамицин-стрептококк	≤4	8	≥16
Имипенем-стрептококк	≤4	8	≥16
Левифлоксацин	≤2	4	≥8
Линезолид			
Стафилококк ⁴	≤4	-	-
Энтерококк	≤2	4	≥8
Стрептококк ^{2, 3, 4}	≤2	--	--
Меропенем-стафилококк	≤4	8	≥16
Моксифлоксацин-стафилококк	≤2	4	≥8
Нитрофурантоин-стафилококк или энтерококк	≤32	64	≥128
Норфлоксацин-стафилококк или энтерококк	≤4	8	≥16
Офлоксацин			
Стафилококк	≤2	4	≥8
только β-гемолитический стрептококк	≤2	4	≥8
Оксациллин			
Коагулаз-негативный стафилококк	≤0,25	--	≥0,5
<i>S. aureus</i>	≤2	--	≥4
Пенициллин G			
Стафилококк ¹	≤0,12	--	≥0,25
<i>L. monocytogenes</i>	≤2	--	≥4
<i>Enterococci</i> ¹	≤8	--	≥16
β-гемолитический стрептококк ^{3,4}	≤0,12	--	--
Стрептококки Viridans-группы ²	≤0,12	≤0,25-2	≥4
Пиперацillin/Тазобактам- Стафилококк	≤8/4	--	≥16/4
Рифампин-Стафилококк или Энтерококк	≤1	2	≥4
Спарфлоксацин			
Энтерококк ⁶	≤1	2	≥4
Стафилококк	≤0,5	1	≥2
Сульфаметоксазол- стафилококк	≤256	--	≥512
Синеркид-Стафилококк, энтерококки	и ≤1	2	≥4
Тетрациклин			
Все грам-положительные организмы, кроме <i>Streptococcus spp</i>	≤4	8	≥16

Стрептококк ^{2,3}	≤2	4	≥8
Тикарциллин/К.Клавуланат-стафилококк ¹	≤8/2	—	≥16/2
Триметоприм/Сульфаметоксазол-стафилококк	≤2/38	---	≥4/76
Ванкомицин ¹			
Стафилококки и энтерококки	≤4	8-16	≥32
<i>S.aureus</i>	≤2	4-8	≥16
Стрептококки	≤1	--	--

*Основано на интерпретирующих точках осветления, как указано в документе NCCLS M100-S12. Безопасность антимикробных веществ, включенных в эту панель, и их эффективность в лечении клинических инфекций всех проверенных организмов не доказана. Для формирования отчетов по антибактериальным препаратам, которые показали активность против групп организмов в лабораторных условиях или в клинических инфекциях, используйте документ M100 НККПС, Таблицы 1 и 2 или фармацевтический вкладыш.

Таблица интерпретации результатов тестов CfxS и индуцибельного клиндамицина

Тест	Отрицательный	Положительный
CfxS	≤4	>4
Инд. Клиндамицин		
Стафилококк	≤4/0,5	>4/0.5

MicroScan® CfxS выявляет чувствительность *S.aureus* *S.lugdunensis* к пеницилиназе устойчивым беталактамам (Оксациллин), используя CfxS и МПК оксацилина после инкубации 16-20 часов. Результаты CfxS и МПК оксацилина учитываются независимо через 16-20 часов окончательный результат получают при помощи программы LabPro или учитывают вручную для получения окончательной интерпретации по оксациллину. См. следующую таблицу

Окончательная интерпретация по Оксациллину		
CfxS	МПК Оксациллин	<i>S.aureus</i> , <i>S.lugdunensis</i>
≤4 мкг/мл отриц	≤0,25	S
	≤0,5	S
	1 или 2	S
	2	R
> 4 мкг/мл Полож	≤0,25	R
	≤0,5	R
	1 или 2	R

Тест на индуцибельный клиндамицин

Тест для определения резистентности к индуцибельному клиндамицину у стафилококков, резистентных к эритромицину. Результат эквивалентен результатам теста определения зоны задержки роста при дисковом методе. (D-zone - метод диффуз.дисков)

Процент соответствия

Организм	Чувствительность D-zone полож	Чувствительность D-zone отриц.
	№ (%)	№(%)
<i>Staphilococcus sp.</i>	264/269 (98,1%)	111/111 (100%)

1. Отличаются от точек освещения изготовителя.
2. Интерпретации НККЛС для *стрептококка* существуют только для приведенных препаратов. Составляйте отчет только по стрептококкам группы Д (*S. bovis*) по обезвоженным грам-положительным панелям MicroScan.
3. Точки освещения НККЛС для *стрептококка* существуют только для приведенных антимикробных препаратов. Составляйте отчет только по стрептококкам группы В (*S. agalactiae*) по обезвоженным грам-положительным панелям MicroScan.
4. Отсутствие реакции, либо устойчивость препарата делает в данном случае невозможным определение иной категории для результата кроме «Восприимчивый». Штаммы, показывающие результаты, которые указывают на их невосприимчивость, должны быть переданы в соответствующую лабораторию для дальнейшего тестирования.
5. Основано на точках освещения производителя.

Стрептомицин и Гентамицин Synergy тест

При энтерококкальном эндокардите использование пенициллина или ампициллина часто не приводит к ожидаемым результатам. Когда энтерококки восприимчивы в лабораторных условиях к высоким уровням стрептомицина или гентамицина, добавление этого антимикробного препарата к пенициллину или ампициллину является синергическим и клинически коррелируется с улучшенным лекарственным уровнем.^{26, 31} Согласно Документу НККЛС М7-А6, рекомендуемым методом обнаружения высокого уровня устойчивости аминогликозида (HLAR) для микроразбавления бульона является:

Антимикробная инкубация	Концентрация среды
Гентамицин	BHI*
24 часа	500 мкг/мл
Стрептомицин	BHI*
24-48 часов	1000 мкг/мл

*Сопоставимые результаты были продемонстрированы для раствора декстрозы фосфата.

Работа Synergy тестов гентамицина и стрептомицина на панелях MicroScan® была сравнена с эталонными методами микробульона, рекомендуемыми НККЛС. Любое проявление мутности должно считаться ростом или должно быть повторно инкубировано, чтобы подтвердить результаты. Результаты, полученные с гентамицин Synergy после 18-часовой инкубации, были сопоставимы результатам 24-часового испытания по эталонному методу. Для лучшего обнаружения устойчивости с тестом Synergy стрептомицина, панели MicroScan® должны быть культивированы в течение 24 - 48 часов.

Лунка свободного тимидинового роста

Некоторым бактериям для роста требуется тимидин. Эти бактерии могут показывать ложную восприимчивость к салфонамидам из-за наличия фосфорилазы тимидина в бульоне Мюллер-Хинтона. Если организм не растет в лунке TFG, данные МПК для T/S и Sx не следует рассматривать.

Ограничения Процедуры

1. Обезвоженные грам-положительные панели MicroScan не следует использовать для определения уровней восприимчивости штаммов стрептококков, кроме стрептококков группы В (*S. agalactiae*) и стрептококков группы В (*S. bovis*). Такие штаммы должны тестироваться одобренными методами - например, с помощью панели MICroSTREP MicroScan®.
2. Документ НККЛС М7 рекомендует добавлять в бульон Мюллер-Хинтона лизированную конную кровь для тестирования прихотливых стрептококков. Процедура тестирования при помощи обезвоженных грам-положительных панелей MicroScan® не согласовывается с данной рекомендацией. При наличии неадекватного роста в лунке роста результаты МПК для стрептококков группы В (*S. agalactiae*) и стрептококков группы В (*S. bovis*) не являются правильными. Нужно применить альтернативную методику.
3. Обезвоженные грам-положительные панели MicroScan® можно использовать для идентификации прихотливых стрептококков. При наличии неадекватного роста в лунке роста биохимические

результаты считаются неверными и следует применять альтернативный метод тестирования.

4. Анаэробные бактерии – Поз.Комбо/Поз.МПК панели не подходят для тестирования аэробных грам-положительных бактерий.

5. Могут понадобиться дополнительные тесты для окончательной идентификации, если получена низкая (менее 85%) вероятность идентификации. (Руководство по процедуре тестирования аэробных грам-позитивных организмов или Руководство микробиолога может быть найдено в Книге кодов биотипов MicroScan®).

6. Показатели МПК пенициллина для коагулаза-негативных стафилококков не представляются значимыми для предсказания устойчивости из-за бета-лактамазы. Следовательно, следует провести тест бета-лактама для подтверждения МПК. Было доказано, что штаммы *S. saprophyticus* с уровнем МПК пенициллина 1-2 мкг/мл не производят бета-лактамазу, а значит, ампициллин, амоксициллин или пенициллин могут применяться при инфекциях мочеполовой системы для таких организмов.

7. Легкое помутнение может отмечаться в случайных лунках некоторых бактерицидов из-за неполной растворимости некоторых составляющих среды, что не должно считаться признаком роста.

8. Для интерпретации результатов тестирования требуется обученный клинический персонал, который должен использовать свои аналитические способности, полученные знания и проводить дополнительные подтверждающие тесты для окончательной идентификации организма.

9. Номера биотипов не должны использоваться для идентификации фенотипа штаммов, взятых из различных образцов того же самого пациента.

10. Результаты, полученные при тестировании упомянутых ниже комбинаций организма и бактерицидной добавки, показали несоответствующий референтному ночному методу уровень МПК. Если бактерицидная добавка критически важна для лечения пациента, следует использовать альтернативную процедуру, либо результаты по антимикробному препарату не должны рассматриваться из-за низкой корреляции.

11. Поведение азитромицина, цефдинира, цефепима, кларитромицина, гатифлоксацина, левофлоксацина, линезолида, меропенема, моксифлоксацина, спарфлоксацина, синеркида, Synergy стрептомицин теста и гентамицин Synergy теста не было установлено при использовании с методом постоянной фазы и лог-методом инокуляции. Онокулят должен готовиться методом мутности или Prompt™.

Организм	Критически важные для препаратов, использовать альтернативный метод	Препараты, которых сообщать не нужно
<i>Viridans Streptococci</i>		Все
<i>S.pneumoniae</i>		Все
Все стрептококки группы (S. agalactiae)		Все
Стрептококки группы (S. agalactiae)		Амикацин, гентамицин
Все стрептококки		Азитромицин, кларитромицин, эритромицин
Энтерококки	Меропенем ¹	Азитромицин, кларитромицин
<i>E.faecium</i>		Имипенем
Метициллин-устойчивый коагулазонегативный стрептококк		Цефдинир
Метициллин-устойчивый стафилококк		Пиперациллин / тазобактам
<i>Aerococcus viridans</i>	Пиперациллин тазобактам	/
<i>Listeria monocytogenes</i>	Пиперациллин тазобактам	/ Азитромицин, кларитромицин, спарфлоксацин

1. Только для растворов ТО

2. Когда функция печати останавливается DMS, следует вручную запретить выдачу результата. Пожалуйста, консультируйтесь с Руководством по использованию DMS.

3. Печать не запрещается в Системе Обработки данных (DMS) версии: ≤ V24.20 и LabPro версий ≤ 1.12

12. Работа доработанной системы идентификации не была проверена в сочетании с методом постоянного инокулята. Инокулят следует готовить по методу мутности, быстрому методу или методу лог-фазы.

13. Ванкомицин-устойчивая *E.faecium* может быть дифференцирована от *E.gallinarum* проверкой подвижности и выделения пигмента.

Дополнительная информация может быть получена из таблицы Дополнительное тестирование в Руководстве микробиолога или Книге кодов биотипов для анаэробных грам-позитивных организмов.

14. Диапазоны контроля качества для некоторых антибактериальных препаратов не согласовывались с допускаемыми НККЛС диапазонами контроля качества, приведенными в Таблице 3 документа НККЛС M7-A6. Подробная информация в Таблице Контроля Качества (КК).

15. Система быстрого тестирования при сравнении с референтным методом показывала повышенные уровни МПК для фторхинолонов (например, гатифлоксацина), линкозамидов (например, клиндамицина) и макролидов (например, эритромицина) со стафилококком. Концентрация инокулянта критична для этих комбинаций антимикробных препаратов. При получении «Среднего» или «Устойчивого» результата интерпретации при быстрой методике следует использовать альтернативный метод (например, метод мутности с использованием формата без точек освещения).

16. Тесты бульона и агарового раствора не могут точно определить пенициллиновую и ампициллиновую устойчивость со штаммами энтерококки, производящими бета-лактамазу. Для определения устойчивости этих штаммов лучше всего использовать прямой бета-лактамазный тест, основанный на нитроцефине.

17. Способность обезвоженных грам-позитивных панелей MicroScan® определять среди *L.monocytogenes* устойчивость к меропенему не установлена, так как устойчивые штаммы не были доступны на момент проведения сравнительных тестирований.

18. Способность обезвоженных грам-позитивных панелей MicroScan® определять устойчивость к линезолиду не установлена, так как устойчивые штаммы не были доступны на момент проведения сравнительных тестирований.

19. Важно специатировать штаммы энтерококки, так как синеркид не активен против *E.faecalis*.

Ошибочные Результаты

Стандарт M7-A6 НККЛС заявляет, что при тестировании определенных комбинаций бактерицидных агентов и некоторых организмов могут быть получены потенциально опасные в своей некорректности результаты. Для энтерококков это такие антимикробные препараты, как: цефалоспорины, аминогликозиды (кроме высокоуровневого тестирования на устойчивость), клиндамицин и триметоприм с сульфаметоксазолом. Для *Listeria* spp. таким бактерицидом являются цефалоспорины. Система управления данными MicroScan® сообщит только показатель минимальной подавляющей концентрации, а не интерпретацию тех случаев, когда будут встречаться вышеупомянутые комбинации антимикробных препаратов и организма.

Ожидаемые Значения

За ожидаемыми идентифицирующими значениями обращайтесь к Процентным Диаграммам MicroScan®, включенным в Книгу кодов для аэробных грам-положительных организмов, либо к Руководству микробиолога.

Особенности эксплуатации

1. Идентификация

Работа обезвоженных грам-позитивных панелей 2го типа MicroScan® была оценена в нескольких клинических лабораториях. Клинические и исходные штаммы были протестированы на обезвоженных позитивных ID панелях второго типа и на основе стандартной пробирочной методологии, чтобы сформулировать тип бактериологической популяции в стандартной клинической лаборатории. Полный перечень организмов, включенных в базу данных, приведен в Информационном справочнике по системной микробиологии MicroScan® (Раздел 4: обезвоженная позитивная ID панель 2го типа). Результаты на обезвоженной позитивной ID панели второго типа для *Micrococcaceae* согласовывались в 97,5% случаев (157/161) с уровнями штаммов на видовом и групповом уровнях. Только 5,6% (9/161) штаммов потребовали дополнительного тестирования для подтверждения низкой вероятности видовой или групповой идентификации.

Результаты на обезвоженной позитивной ID панели второго типа для *Streptococcaceae* согласовывались в 91,3% случаев (230/252) с видовыми уровнями и в 92,1% случаев (232/252) с групповыми уровнями. Только 14,3% (36/252) и 4,4% (11/252) штаммов потребовали дополнительное тестирование для подтверждения низкой вероятности видовой или групповой идентификации соответственно.

2. Антимикробные препараты

Работа обезвоженных панелей MicroScan® была оценена в нескольких клинических лабораториях. Антимикробы в Таблице 1 и Таблице 2 были протестированы на обезвоженных панелях MicroScan® с использованием инокуляционного метода мутности и читались вручную. Эти результаты были сравнены с соответствующей системой МПК.

Для антимикробных агентов, взятых для использования на обезвоженных панелях MicroScan® после декабря 1993 года, в Таблице 2 приведены начальная и конечная эффективности. Конечная эффективность включает повторное тестирование с целью разрешения несоответствия.

Таблица 1
Процентное согласование с референтным методом

Антимикробный агент	Число протестированных штаммов	МПК	Категорич.
Амикацин	101	99	-
Амоксициллин / К	350	-	98
Клавуланат			
Ампициллин /	302	98	100
сульбактам			
Цефамандол	404	-	96
Цефазолин	324	-	100
Цефотаксим	313	-	100
Цефтизоксим	324	99	100
Цефтриаксон	300	-	99
Цефуроксим	324	-	100
Цефалотин	170	93	94
Хлорамфеникол	170	-	97
Ципрофлоксацин	350	-	100
Клиндамицин	170	100	100
Эритромицин	170	99	98
Гентамицин	170	100	100
Имипенем	350	-	98
Нитрофурантоин	170	-	100
Норфлоксацин	170	-	100
Офлоксацин	376	99	99
Оксациллин	217	97	98
Пенициллин	170	91	95
Рифампин	350	-	99
Сульфаметоксазол	354	-	99
Тетрациклин	170	90	97
Тикарциллин / К	300	-	99
Клавуланат			
Триметоприм /	170	-	100
сульфаметоксазол			
Ванкомицин	170	-	99

Таблица 2
Процентное согласование с референтным методом

Бактерицидная добавка	Кол-во протест ированн ых штаммо в	Начальн., %		Окончательн., %	
		МПК	Категори ч.	МПК	Категори ч.
Ампициллин	338	94,7	98,8	97,6	98,5
Азитромицин					
МПК	356	97,5	98,6	98,9	99,7
ТО	356	---	98,6	---	99,7
Цефдинир					
МПК	313	90,7	94,6	93,6	95,5
ТО	313	---	91,4	---	92,0
Цефепим					
МПК	535	94,6	97,0	95,9	97,6
ТО	535	---	92,0	---	92,1
Кларитромицин					
МПК	356	98,9	99,7	99,7	99,7
ТО	356	---	98,9	---	98,9
Гатифлоксацин	462	96	97	---	---
Гентамицин Synergy*	342	---	98,08	---	99,1
Линезолид	613	99	100	---	---
Левифлоксацин					
МПК	320	98,1	99,7	99,4	100
ТО	320	---	95,9	---	96,3
Меропенем					
МПК	320	95,9	97,5	97,2	98,1
ТО	320	---	89,4	---	89,4
Моксифлоксацин	500	99	98	---	---
Пиперацillin / тазобактам					
МПК	385	95,6	99,0	97,7	99,5
ТО	385	---	98,7	---	99,2
Спарфлоксацин					
МПК	320	98,1	99,7	98,4	99,7
ТО	320	---	94,1	---	94,1
Стрептомицин Synergy*	342	---	97,7	---	98,8
Синеркид					

МПК	255	98,0	99,8	98,4	99,8
ТО	255	---	99,8	---	99,8

*Результаты основаны на абсолютном категорическом согласовании

Воспроизводимость

Исследования воспроизводимости были проведены во множественных клинических лабораториях, чтобы подтвердить приемлемую работу с рекомендуемыми методами, описанными в данном Руководстве.

Список использованных источников:

1. Мюррей, Р.Р., Е.Дж. Барон, Й.Х.Йоргенсен, М.А. Пфаллер. и Р.Х. Иолкен (редакторы), 2003. Руководство Клинической Микробиологии, 8я ред. Американ.Общество Микробиологии, Вашингтон округ Колумбия
2. Барри, А. Л. 1970. Антимикробный Тест Восприимчивости, Принципы и Методы. Леа и Фебиджер, Филадельфия, стр.26.
3. Барри, А. Л., Ф. Гарсия, и Л. Д. Трапп, 1970. Улучшенный единственный дисковый метод для того, чтобы проверить антибиотик. Клин. Пат. 53:149.
4. Барри, А. Л., и Л. Дж. Эффинджер. 1974. Оценка полуавтоматизированной системы микроразбавления для тестирования антибиотической восприимчивости. # 109.
5. Барри, А. Л., Р. Н. Джонс, и Т. Л. Гэвэн. 1978. Оценка Системы Микросреды для количественного антимикробного тестирования восприимчивости: совместное исследование. Антимикроб. Агенты Хемотер. 13:61.
6. Катлин В.Б. 1975. Йодометрическое определение гемофилич. влияния бета-лактамазы: быстрый тест на ампициллиновую устойчивость. Антимикроб.Агенты Хемотер. 7:265.
7. Читвуд, Л. А. 1969. Тестирование восприимчивости антибактериального препарата пробирочного разбавления: эффективность микрометодики, применимой к диагностическим лабораториям. Прикладная Микробиология. 17:707.
8. Эрикссон, Н. М., и Дж. С. Шеррис. 1971. Антибиотическое тестирование чувствительности: Отчет международного совместного исследования. 217:1.
9. Факлам Р.Р. 1971. Распознавание стрептококков группы Д в организме с помощью биохимических и физиологических тестов. Прикл.Микробиол. 23:1131.
10. Факлам Р.Р. 1973. Сравнение сред некоторых лабораторий на гипотетическую идентификацию энтерококка и стрептококка группы Д. Прикл. Микробиол. 26:138.
11. Факлам Р.Р. и П.Б.Смит. 1976. Грам-позитивные кокки.Челов.Пат. 7:187

12. Фалк Д. И С.Дж. Гуринг. 1983. Дифференциация стафилококков и микрококков бацитрацитным А диском. Дж.Клин.Микробиол. 18:719.
13. Фучс, Р. С., Р. Н. Джонс, и Н. М. Соммерс. 1976. Руководство на Методе Репликатора. Чикаго.
14. Гэвэн Т. Л., Н. В. Макфэдден младший, и Е. Л. Чезтл. 1971. Антибактериальное Тестирование Восприимчивости. Клин. Пат., Чикаго.
15. Гэвэн Т. Л., и М. А.Таун. 1969. Микрометод разведения для антибиотического тестирования восприимчивости. Бактер. Прок. 73.
16. Гэвэн, Т. Л., и М. А. Таун. 1970. Микрометод разведения для антибиотического тестирования восприимчивости. Клин. Пат. 53:880.
17. Гэвэн, Т. Л., и Д. А.Батлер. 1974. Автоматизированный микрометод разведения для тестирования антибактериальной восприимчивости. стр. 88. В А. Бэлоус (редактор) Методики Потока для Антибактериального Тестирования Восприимчивости. С. С. Томас, Спрингфилд.
18. Джерлак, Е. Н. 1974. Микроразбавление: сравнительное изучение, стр. 63. В А. Бэлоус (редактор) Методики Потока для Антибиотического Тестирования Восприимчивости. С. С. Томас, Спрингфилд.
19. Джерлак, Е. Н., Р. Дж. Тэйлор, и В. Бомэн. 1969. Сравнение руководства и автоматизированный метод определения чувствительности антибиотика. Клин. Стандарт. 52:748.
20. Гросс К.С., М.П. Хьютон и Л.Б. Сентрерфит. 1975 Гипотетическая спецификация стрептококка бови и других стрептококков группы Д из человек.образцов, с исп. аргинина и пируват тестов. Дж.Клин.Микробиол. 1:54.
21. Харвик, Н. Дж., Р. Веисс, и Ф. Фекети младший, 1968. Методики микротитрования. Клин. Медиана 72:511.
22. Клэстерски, Дж.,Д. Дэнео, Г. Свингс, и Д. Виртс, 1974. Антибактериальная деятельность в сыворотке и моче: лечебное пособие по бактериальным инфекциям. 129:187.
23. Клоос В.И. и К.Х.Шнайдер. 1975. Упрощенная схема стандартной идентификации человеческих видов стафилококков. Дж.Клин.Микробиол. 1:82.
24. Макфэддин, Дж. Ф. 1980. Биохимические Тесты на Идентификацию Медицинских Бактерий, 2-я редакция, Виллизмс и Вилкенс, Балтимор.
25. Маклори, Дж. Д., и Н. Н. Марш. 1968. Полуавтоматическая микрометодика для тестирования чувствительности антибиотика серийного разведения в клинической лаборатории. Лаборатория. Клин. Медиана 72:685.
26. Манделл Г.Л., Д.Кайл. М.И. Левизон и др. 1970. Эндокардиты энтерококки: Анализ 38 пациентов, проведенный в больнице Нью-Йорка – Мед.ценр Корнелл. Арх.Инт.Мед. 125:258

27. Мэримонт, младший, Дж. Н., и Р. М. Венц. 1966. Тестирование чувствительности антибиотика серийного разведения с микротитровальной системой. Клин. Путь. 45:548.
28. Маккэйб, В. Р., и Г. Г. Джексон. 1965. Дж. Медиана 272:1037.
29. Макдугал Л.К. и Тосберри. 1984. Новые рекомендации относительно диско-диффузионных тестов антимикробной восприимчивости для метициллин-устойчивых (гетеро-устойчивых) стафилококков. Дж.Клин.Микробиол. 19:482.
30. Методы для Тестов Восприимчивости Антибактериального препарата Разбавления бактерий, которые Выращивают Аэробикалли. 2000. Одобрённый Стандарт М7-А5. Национальный комитет для Клинических Лабораторных Стандартов, Уэйн.
31. Моллеринг Р.К., К.Веннерштен и А.Н.Вайнберг. 1971. Исследования антибиотич. синергизмов на энтерококк: М.Бактериолог.Исслед. Дж.Лаб.Клин.Мед. 77:821.
32. Мушер, С. М., Дж. Н. Минут, С. В. Торстеинссон, и Т. Холмс. 1975. Эффективность достижимых мочевых концентраций тетрациклинов против "стойких к тетрациклину" патогенных бактерий. 131:S40.
33. Стэми, Т. А., В. Р. Фейр, М. М Тимоти, М. А. Миллер, Г. Михэра, и Й. С. Лоури. 1974. Сыворотка против мочевых антибактериальных концентраций в лечении от инфекций мочевых путей. Медиана 291:1159.
34. Стэми, Т. А., Д. Е. Говэн, и Дж. М Палмер. 1976. Локализация и обработка инфекций мочевых путей: роль бактериальных уровней мочи в снижении уровня сыворотки. Медицина. 44:1.
35. Сварцберг, Дж. Е. 1987. Антимикробный Руководящий принцип Терапии, 4-ая редакция, MicroScan, Западный Сакраменто.
36. Тилтон, Р. С., и Л. Ньюберг. 1974. Стандартизация теста восприимчивости микроразбавления, стр. 77. В А. Бэлоус (редактор). Текущие Методики для Антибактериального Тестирования Восприимчивости. С. С. Томас, Спрингфилд.
37. Тилтон, Р. С., Л. Либермэн, и Е. Н. Джерлак. 1973. Тест восприимчивости антибиотика микроразбавления: экспертиза определенных переменных. Прикладная Микробиол. 26:5, 658.
38. Торнсберри К. и Л.А. Корвен. 1974. Ампициллиновая устойчивость гемофильической инфлюанцы, выявленной быстрым методом выявления производства бета-лактамазы. Антимикроб.Агенты Хемотер. 6:633.
39. Терк, М., Р. Линдемейер, и Р. Петерсдорф. 1963. Сравнение единственного диска и методик пробирочного разбавления в определении антибиотической чувствительности болезнетворных организмов ЗАЙК12Кс-ЗАЙК13Кс. Энн Инт. Медиана 58:56.
40. Вашингтон, Дж. А., Е. Уоррен, и А. Г. Карлсон. 1973. Стабильность стандартов мутности барита. Прикладная Микробиол. 24:6, 1013.

41. Всемирная организация здравоохранения. Стандартизация методов проведения тестов чувствительности. Второй Отчет Опытного Комитета по Антибиотикам. стр. 1. Женева, 1961.

42. Стандарты Работы для Антибактериального Тестирования Восприимчивости. 2003. Документ НККЛС M100-S13. Национальный комитет для Клинических Лабораторных Стандартов, Уэйн, Пенсильвания.

Гарантийные обязательства

Данные продукты должны функционировать так, как это описано на соответствующих этикетках и в сопроводительных информационных материалах от MicroScan, при условии соблюдения всех эксплуатационных требований. ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА НЕ ВЫХОДЯТ ЗА РАМКИ УПОМЯНУТЫХ В ЭТОМ РАЗДЕЛЕ ОГРАНИЧЕНИЙ. DADE BEHRING INC. ОТРИЦАЕТ ЛЮБЫЕ ДРУГИЕ ПОДРАЗУМЕВАЕМЫЕ ГАРАНТИИ ПРИГОДНОСТИ ДЛЯ ПРОДАЖИ ИЛИ ГАРАНТИИ ПРИГОДНОСТИ ТОВАРА ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕННОЙ ЦЕЛИ. Единственным обязательством и исключительной возможностью покупателя, выходящей за рамки наших гарантийных обязательств, может быть, на выбор Dade Behring Inc, ремонт или замена продукта. Ни при каком условии Dade Behring Inc не несет ответственности за любые непосредственные, случайные или не прямые повреждения, нанесенные при эксплуатации данного продукта.

Условные обозначения			
 Произведено	 "Использовать до" дата в формате год-месяц-день	 Обратитесь к Инструкции	 Токсично
 Авторизованный представитель	 Температурные ограничения	 Легко воспламеняющаяся	R22 Не глотать
 Медицинский диагностический прибор для использования в лабораторных условиях	 Маркировка Совета Европы	 Вызывает раздражение / Опасно	S24 Избегайте контакта с кожей
 Код партии	REF Номер по каталогу	 Подвержено коррозии	S25 Избегайте попадания в глаза
			S46 При проглатывании, срочно обратитесь за мед. помощью и покажите данный контейнер или этикетку

