

**Liofilchem® MTS™**

STRESZCZENIE I WYJAŚNIENIE ZASADY DZIAŁANIA TESTU

Liofilchem® MTS™ (paski testowe MIC) to testy gradientowe stosowane do określenia minimalnego stężenia hamującego (MIC) wybranych organizmów w celu wskazania odpowiedniego leczenia pacjenta i określenia wzorów oporności. MIC to minimalne stężenie hamujące leku przeciwdrobnoustrojowego, które hamuje wzrost drobnoustrojów w standardowych warunkach *in vitro*. Procedury MIC dla rozcieńczeń w bulionie i agarze oparte na dwukrotnych seryjnych rozcieńczeniach antybiotyków są metodami referencyjnymi, których oczekiwana odtwarzalność mieści się w zakresie ± 1 podwójnego rozcieńczenia.

ZASADA METODY

MTS™ są wykonane ze specjalnego papieru wysokiej jakości, impregnowanego wstępnie zdefiniowanym gradientem stężeń antybiotyku w zakresie 15 podwójnych rozcieńczeniach, jak w przypadku konwencjonalnej metody MIC. Kiedy MTS™ jest nakładany na zaszczerpioną powierzchnię agaru, wcześniej utworzony wykładniczy gradient środka przeciwdrobnoustrojowego dyfunduje do agaru przez ponad godzinę. Po inkubacji tworzy się symetryczna elipsa zahamowanego wzrostu mikroorganizmów, wyśrodkowana wzdłuż paska. MIC odczytuje się bezpośrednio ze skali w $\mu\text{g/mL}$ w punkcie, w którym krawędź elipsy zahamowanego wzrostu przecina pasek.

W celu wykrycia mechanizmów oporności, takich jak beta-laktamaza o rozszerzonym spektrum (ESBL) i karbapenemaza, stosowany jest dwustronny gradientowy nośnik MTS™. Bakterie oporne identyfikuje się poprzez porównanie zahamowanego wzrostu po obu stronach paska.

ODCZYNNIKI

MTS™ jest dostarczany w 3 różnych opakowaniach (bez dodatkowych odczynników):

- Opakowanie 10 testów zawiera 10 pasków, zapakowanych pojedynczo w koperty ze środkiem pochłaniającym wilgoć oraz instrukcję.
- Opakowanie 30 testów zawiera 30 pasków, zapakowanych pojedynczo w koperty ze środkiem pochłaniającym wilgoć oraz instrukcję.
- Opakowanie 100 testów zawiera 10 kopert ze środkiem pochłaniającym wilgoć (każda zawiera 10 pasków) instrukcję oraz tubę do przechowywania.

PROCEDURA BADANIA

Przechowywanie

Nieotwarte opakowania foliowe: Po otrzymaniu przechowywać MTS™ w temperaturze od -20°C do $+8^{\circ}\text{C}$ do podanej daty ważności. Niektóre MTS™ (np. karbapenemy) należy przechowywać zamrożone w temperaturze -20°C . Należy sprawdzić etykietę leku pod kątem określonej temperatury przechowywania. Produkty zawsze można przechowywać w temperaturze niższej niż określona maksymalna temperatura.

Otwarte opakowania foliowe: Pozostałości MTS™ z otwartego opakowania foliowego (dotyczy wyłącznie opakowań 100 pasków, ponieważ opakowania 10 i 30 pasków zawierają osobno pakowane paski) należy przechowywać w temperaturze $2-8^{\circ}\text{C}$ w dostarczonej w opakowaniu hermetycznej tubie zawierającej środek osuszający, nie dłużej niż 7 dni. Nie przechowywać w pobliżu źródeł ciepła i nie wystawiać na nadmierne wahania temperatury.

Obsługa

Przed użyciem MTS™ z nieotwartego opakowania sprawdzić wzrokowo, czy opakowanie jest nienaruszone. Nie używać pasków, jeśli opakowanie zostało uszkodzone. Po wyjęciu z lodówki/zamrażarki należy pozostawić opakowanie lub pojemnik na około 30 minut do osiągnięcia temperatury pokojowej. Wilgoć skraplająca się na zewnętrznej powierzchni musi całkowicie wyparować przed otwarciem opakowania.

Środki ostrożności

MTS™ nie jest klasyfikowany jako niebezpieczny zgodnie z obowiązującymi przepisami. MTS™ to produkt jednorazowego użytku. MTS™ służy wyłącznie do diagnostyki *in vitro* i jest przeznaczony do użytku profesjonalnego. Musi być używany w laboratorium przez odpowiednio przeszkolonych operatorów, stosujących zatwierdzone metody aseptyczne i bezpieczeństwa dla czynników chorobotwórczych.

Materiały wymagane, ale nie dostarczane:

- Podłoże agarowe na płytce (zatwierdzone przez producenta podłoża do użytku z testami wrażliwości na środki przeciwdrobnoustrojowe, płytki 90 lub 150 mm)
- Medium zawiesinowe
- Standard zmętnienia McFarlanda
- Sterylne ezy, wymazówki (niezbyt mocno skręcone), próbówki, pipety i nożyczki
- Szczypce
- Inkubator ($35 \pm 2^{\circ}\text{C}$)
- Organizmy do kontroli jakości (CultiControl™)
- Dodatkowe informacje techniczne:

www.liofilchem.com

UWAGA: Podłoże, które ma być użyte, jak również zawiesina inokulum będą zależą od badanego organizmu, szczegółowe zalecenia znajdują się w Instrukcji stosowania MTS™.

Przygotowanie Inokulum

Zawiesić dobrze wyizolowane kolonie z nocnej hodowli na płytce agarowej w medium zawiesinowym, aby uzyskać zalecany standard McFarlanda. Jeśli stężenie inokulum jest prawidłowe, po inkubacji powstanie zlewny wzrost mikroorganizmów. Jeśli wystąpi niewystarczający wzrost, badanie należy powtórzyć.

Standardy zmętnienia McFarlanda nie gwarantują prawidłowej liczby żywych komórek w zawiesinie. W celu sprawdzenia, czy procedura zapewnia właściwą gęstość inokulum pod względem CFU/mL, zaleca się regularne zliczanie kolonii. Akceptowalne inokulum powinno dawać około $1-2 \times 10^8$ CFU/mL.

Inokulacja

Zanurzyć sterylną wymazówkę w medium zawiesinowym lub w jego rozcieńczonej postaci i wycisnąć ją na ścianie próbówki, aby usunąć nadmiar płynu. Rozprowadzić wymazówkę na całej sterylnej powierzchni agaru. Powtórzyć tę procedurę, wykonując posiew jeszcze 2 razy, obracając płytkę za każdym razem o około 60 stopni, aby zapewnić równomierne rozprowadzenie inokulum. Pozwolić, aby nadmiar wilgoci został wchłonięty, tak aby powierzchnia była całkowicie sucha przed nałożeniem MTS™.

Używać dobrze zdefiniowanych, wysokiej jakości pożywek, które zapewniają dobry wzrost. Wybrana marka powinna mieć dobrą odtwarzalność między seriami, aby zapewnić dokładne i wiarygodne wartości MIC.

Upewnić się, że płytka agarowa ma głębokość $4,0 \pm 0,5$ mm, pH $7,3 \pm 0,1$ i spełnia wymagania jakościowe.

Nalożenie

Nalożyć pasek na powierzchnię agaru ze skalą skierowaną do góry, a kodem paska na zewnątrz płytki, dociskając go sterylnymi szczypcami do powierzchni agaru i upewnić się, że cała długość gradientu antybiotyku styka się z powierzchnią agaru. Po nalożeniu nie należy przesuwać paska.

Inkubacja

Inkubować płytki agarowe w pozycji odwróconej w odpowiedniej temperaturze, atmosferze i czasie. Szczegółowe instrukcje dotyczące inkubacji można znaleźć w Instrukcji stosowania MTS™.

Warunki testowania MTS™ dla większości typowych organizmów przedstawiono w poniższej tabeli. Więcej informacji na temat konkretnych zastosowań można znaleźć w dokumentach MTS™ dostępnych pod adresem www.liofilchem.com/MTS

Grupa organizmów	Podłoża agarowe	Inokulum		Inkubacja		
		Zawiesina	Zmętnienie	Temperatura	Atmosfera ⁶	Czas ⁸
Bakterie tlenowe	Mueller Hinton 2,3,4,5	0,85% NaCl	0,5 McFarland (1 jeżeli śluzowate)	35 ± 2°C	Środowisko otaczające	16-20 godzin ⁹
ORSA/ORSE	Mueller Hinton + 2% NaCl (wyłącznie oxacylina MTS™)	0,85% NaCl	0,5 McFarland	35 ± 2°C	Środowisko otaczające	24 godziny ORSA 48 godzin ORSE
Bakterie beztlenowe	Brucella Blood	Bulion Brucella lub bulion Mueller Hinton	1 McFarland	35 ± 2°C	80-85 N ₂ / 5-10% CO ₂ / 10% H ₂ ⁷	24-48-72 godziny w zależności od gatunku
Haemophilus influenzae	HTM (CLSI) MH-F (EUCAST)	Bulion Mueller Hinton lub bulion HTM	0,5 McFarland (1 jeżeli śluzowate)	35 ± 2°C	5% CO ₂	20-24 godziny
Streptococcus pneumoniae oraz Paciorkowce ¹	Mueller Hinton + 5% dodatek krwi (CLSI) MH-F (EUCAST)	Bulion Mueller Hinton	0,5 McFarland (1 jeżeli śluzowate)	35 ± 2°C	5% CO ₂	20-24 godziny
Neisseria gonorrhoeae	Podłoże agarowe GC + określone suplementy	Bulion Mueller Hinton	0,5 McFarland	35 ± 2°C	5% CO ₂	20-24 godziny

¹ Obejmuje paciorkowce beta-hemolityczne z grupy A, B, C i G oraz Viridans z grupy S. mutant, S. mitis, S. sanguis i S. bovis.

² W przypadku trimetoprimu i trimetoprimu/sulfametoksazolu upewnić się, że marka i partia agaru mają niską zawartość tyminy/tymidyny, aby zminimalizować antagonizm w działaniu trimetoprimu i sulfonamidów.

³ Inherentna zawartość wapnia w agarze Mueller Hinton może się różnić w zależności od marki i partii. Należy przeprowadzać kontrolę jakości płytek agarowych partiami, aby zakwalifikować je do użycia, szczególnie do badania daptomycyny.

⁴ Inherentna zawartość manganu w agarze Mueller Hinton może się różnić w zależności od marki i partii. Należy przeprowadzać kontrolę jakości płytek agarowych partiami, aby zakwalifikować je do użycia, szczególnie do badania tygecykliny.

⁵ Działanie makrolidów i aminoglikozydów MTS™ z drobnoustrojami tlenowymi zostało zatwierdzone i jest zagwarantowane wyłącznie z **Liofilchem** i agarem **BBL/BD** Mueller Hinton II Agar.

⁶ Na aktywność makrolidów, linkozamidów, streptogramin, aminoglikozydów, chinolonów, penicylin i tetracyklin może wpływać spadek pH spowodowany inkubacją w 5% CO₂ dla organizmów wymagających. Należy pamiętać, że można uzyskać różnice w wynikach między systemami inkubowanymi w otoczeniu i w powietrzu wzbogaconym CO₂.

⁷ Upewnić się, że używany jest skuteczny system beztlenowy, aby osiągnąć szybką anaerobiozę w celu uniknięcia fałszywych wyników oporności na metronidazol.

⁸ Upewnić się, że płytka agarowa jest inkubowana przez zalecany okres przed odczytem, szczególnie w przypadku opóźnionej ekspresji oporności oraz wolno rosnących i wymagających organizmów.

⁹ Wyniki wankomycyny MTS™ są interpretowane po 24 godzinach inkubacji dla gronkowców i enterokoków.

Odczyt MIC

Po wymaganym okresie inkubacji i wyłącznie wtedy, gdy równomierny zlewny wzrost jest wyraźnie widoczny, należy odczytać wartość MIC w miejscu, w którym odpowiednia elipsa zahamowania wzrostu przecina pasek. Nie odczytywać płytki, jeśli kultura jest mieszana lub jeśli wzrost jest zbyt słaby lub zbyt intensywny.

UWAGI:

- Leki przeciwdrobnoustrojowe mogą być „statyczne” (np. bakteriostatyczne, grzybostatyczne) lub „bójcze” w interakcjach z organizmami docelowymi i należy to wziąć pod uwagę w celu prawidłowego określenia wartości granicznej MIC. Do leków

bakteriobójczych, np. beta-laktamów, odczytać MIC w punkcie całkowitego zahamowania wzrostu. Zmętnienie i makrokolonie lub mikrokolonie w odległości 3 mm od paska należy odczytywać jako wzrost.

Do leków bakteriostatycznych, np. trimetoprym-sulfametoksazolu, w przypadku możliwych do prześledzenia punktów końcowych, odczytuje się przy 80% zahamowaniu, tj. pierwszy punkt znaczącego hamowania oceniany gołym okiem. Więcej informacji można znaleźć w dokumencie MTS30.

- Wzrost wzdłuż całego gradientu, tj. brak elipsy zahamowania wzrostu wskazuje, że wartość jest większa lub równa (\geq) najwyższej wartości na skali. Elipsa zahamowania wzrostu, która przecina się poniżej dolnego końca skali, jest odczytywana jako mniejsza niż ($<$) najniższa wartość. Przecięcie między dwoma segmentami skali należy zaokrąglić w górę do wyższej wartości. Dla celów raportowania wartość MIC równa 0,125 $\mu\text{g/mL}$ jest uznawana za to samo, co 0,12 $\mu\text{g/mL}$. Zobacz odpowiednie karty techniczne MTS™, na przykład zdjęcia organizmów specyficznych dla konkretnych leków. Zapoznaj się również z Przewodnikiem fotograficznym MTS™.
- Nadmiernie mokre płytki przed inokulacją, niewystarczające wyschnięcie przed nałożeniem pasków i/lub nierówne rozprowadzenie powierzchni może spowodować niespójny wzrost lub postrzępione krawędzie elipsy. Jeśli punkty końcowe MIC są trudne do odczytania należy powtórzyć test. W przypadku nierównomiernych przecięć MIC, odczytać wyższą wartość. Powtórzyć test, jeśli rozbieżność wynosi >1 rozcieńczenie.
- Czasami kombinacje niektórych środków przeciwdrobnoustrojowych/mikroorganizmów mogą dawać niestandardowe rezultaty. W takich przypadkach ocena punktu końcowego MIC może być trudna dla niedoświadczonego personelu. Jednak poszczególne osoby można przeszkolić poprzez regularne stosowanie szczepów kontroli jakości, instrukcji odczytywania MTS™ i porównań z doświadczonym personelem w celu prawidłowej oceny punktów końcowych MIC.

Interpretacja Wyników

Aby sklasyfikować wynik, zazwyczaj jako wrażliwy, średniowrażliwy lub oporny, należy zapoznać się z aktualnymi wartościami granicznymi MIC opublikowanymi przez CLSI, EUCAST i/lub krajową grupę referencyjną. Przegląd kryteriów interpretacyjnych CLSI i EUCAST przedstawiono w **Tabeli 1** (online). Ponieważ MTS™ generuje wartości MIC, które mieszczą się między dwukrotnymi rozcieńczeniami do interpretacji, wartość MIC MTS™, która mieści się między standardowymi dwukrotnymi rozcieńczeniami, musi zostać zaokrąglona w górę do następnej standardowej górnej dwukrotnej wartości przed kategoryzacją. Na przykład wartość MIC wankomycyny *S. aureus* wynosząca 1,5 µg/mL jest podawana jako 2 µg/mL.

W przypadku testów wykrywania oporności, które są metodami potwierdzenia fenotypu nieprzeznaczonymi do standardowego określania wartości MIC, należy odczytać wynik MTS™ zgodnie ze szczegółowymi instrukcjami w karcie technicznej produktu.

UWAGI:

- Podobnie jak w przypadku wszystkich danych AST, wyniki MTS™ są wartościami wyłącznie *in vitro* i mogą wskazywać na potencjalną podatność organizmu *in vivo*. Wykorzystanie wyników do kierowania wyborem terapii musi być wyłączną decyzją i odpowiedzialnością lekarza prowadzącego. Ich ocena powinna opierać się na historii medycznej i wiedzy o pacjencie, farmakokinetyce/farmakodynamice środka przeciwdrobnoustrojowego oraz doświadczeniu klinicznym w leczeniu zakażeń wywołanych przez określony drobnoustrój patogenny. Należy również wziąć pod uwagę lek, dawkę i schemat dawkowania.
- Aby uzyskać szczegółowe informacje na temat określonych ograniczeń interpretacyjnych i/lub ograniczeń dotyczących klinicznego stosowania środka przeciwdrobnoustrojowego w różnych sytuacjach terapeutycznych, należy zapoznać się z tabelami i przypisami standardów interpretacyjnych MIC w najnowszych dokumentach CLSI i EUCAST.

Eliminacja Zużytego Materiału

Po użyciu, MTS™ i materiał, który miał kontakt z próbką należy odkażić i zutylizować zgodnie z aktualnymi technikami laboratoryjnymi dotyczącymi odkażania i usuwania potencjalnie zakażonego materiału.

KONTROLA JAKOŚCI

Aby sprawdzić działanie wyniku MTS™, należy przetestować szczep(y) kontroli jakości, jak pokazano w **Tabeli 1** (online). Wyniki izolatów od pacjenta są uznawane za zadowalające, jeśli wynik(i) kontroli jakości mieszczą się w oczekiwanym zakresie(ach). Nie należy podawać wyników dla izolatów, jeśli wyniki kontroli jakości wykraczają poza podany zakres KJ. Wyniki MIC dla szczepu KJ, którego rozcieńczenie jest o połowę niższe od dolnej granicy KJ należy zaokrąglić w górę do najbliższej dwukrotnej wartości, która określi zgodność KJ. Wyniki MIC, których rozcieńczenie jest o połowę wyższe od górnej granicy, byłyby zaokrąglane w górę do następnej górnej dwukrotnej wartości, co skutkowałoby niezgodnością z KJ.

OGRANICZENIA

Patrz karta techniczna MTS™ dla konkretnego leku.

OCZEKIWANE WARTOŚCI

Oczekiwane wyniki testów wrażliwości będą się różnić w zależności od lokalizacji i instytucji. Wzorce oporności organizmów będą bezpośrednio związane z populacją organizmów w każdym miejscu.










CHARAKTERYSTYKA DZIAŁANIA

Patrz karta techniczna MTS™ dla konkretnego leku.

BIBLIOGRAFIA

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

TABELA SYMBOLI

 Nie używać ponownie  Data ważności	 Nr serii  Nr katalogowy	 Wytwórca  Opakowanie wystarcza do wykonania <n> testów	 Wyrób medyczny do diagnostyki <i>In vitro</i> Temperatura przechowywania	 Górna granica temperatury  Uwaga! Zapoznać się z dokumentacją produktową
---	---	--	---	--

Więcej informacji na temat konkretnych zastosowań, leków i kombinacji lek-organizm można znaleźć na stronie:

Liofilchem.com/MTS

Liofilchem®, logo firmy Liofilchem oraz logo MTS są zarejestrowanymi znakami handlowymi

LIOFILCHEM s.r.l.

© Copyright LIOFILCHEM 2020



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com

**MIC Test Strip
Patent
Międzynarodowy**



W USA dostępne dla produktów
oznaczonych jako „FDA Cleared” w
katalogu MTS™.

Tłumaczenie: Dystrybutor Argenta Sp. z o.o. Sp. K.