



Liofilchem® MTS™

POPIS A ZAMÝŠLENÉ POUŽITÍ PRODUKTU

Liofilchem® MTS™ (MIC Test Strip) je určen pro kvantitativní stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC) antimikrobiálních látek proti mikroorganismům a pro detekci mechanismů rezistence. MIC je minimální inhibiční koncentrace antimikrobiálního léčiva, které bude inhibovat růst mikrobů za standardizovaných podmínek in vitro. Bujonové a agarové diluční MIC postupy založené na dvojnásobném sériovém ředění antibiotik jsou referenčními metodikami; očekávaná reprodukovatelnost je v rozmezí ± 1 dvojnásobného zředění.

PRINCIP METODY

MTS™ jsou vyrobeny ze speciálního, vysoce kvalitního papíru impregnovaného předdefinovaným koncentračním gradientem antibiotika, a to v 15 dvojkových ředění, stejně jako u konvenční metody MIC. Po aplikaci MTS™ na inokulovaný povrch agarové plotny, předem utvořený gradient antibakteriální látky po více než hodině difunduje do agaru. Po inkubaci se vytvoří symetrická inhibiční elipsa mající střed kolem stripu.

Pro detekci mechanismů rezistence, jako jsou betalaktamázy s rozšířeným spektrem (ESBL) a karbapenamázy, jsou gradienty diagnostických činidel nanášeny na obou koncích MTS™. Rezistentní bakterie jsou identifikovány porovnáním inhibice na obou koncích stripu.

BALENÍ

MTS™ je dodáván ve 3 různých variantách balení (nejsou zahrnuta žádná další činidla):

- Balení 10 testů obsahuje 10 proužků jednotlivě balených v adsorpčních obalech a návod k použití.
- Balení 30 testů obsahuje 30 proužků jednotlivě balených v adsorpčních obalech a návod k použití.
- Balení 100 testů obsahuje 10 vysoušecích obalů, z nichž každá obsahuje 10 proužků, návod k použití a zkumavku pro skladování.

PRACOVNÍ POSTUPY

Skladování

Neotevřené fóliové obaly: Po přijetí uchovávejte MTS™ při teplotě -20 °C až $+8\text{ °C}$ až do uvedeného data expirace. Některé MTS™ (např. karbapenemy) by měly být skladovány zmrazené při teplotě -20 °C . Teplotu skladování si vždy ověřte na štítku produktu. Produkty mohou být skladovány při nižší teplotě, než je maximální specifikovaná teplota.

Otevřené fóliové obaly: Zbývající MTS™ z otevřeného fóliového obalu (platí pouze pro balení 100 stripů, protože balení 10 a 30 stripů obsahuje jednotlivě balené proužky) musí být uchovávány při teplotě $2-8\text{ °C}$ ve vzduchotěsné zkumavce obsahující vysoušedlo, dodávané v balení, a to po dobu nejvýše 7 dnů. Neskladujte v blízkosti zdrojů tepla a nevystavujte nadměrnému kolísání teploty.

Manipulace

Před vyjmutím MTS™ z neotevřeného obalu vizuálně zkontrolujte, zda je balení neporušené. Pokud je obal poškozený, stripy nepoužívejte. Po vyjmutí z chladničky/mrazničky nechte obal nebo skladovací nádobu vytemperovat na pokojovou teplotu po dobu asi 30 minut. Kondenzovaná vlhkost na vnějším povrchu se musí před otevřením obalu zcela odpařit.

Opatření

MTS™ nejsou klasifikovány jako nebezpečné podle současných předpisů. MTS™ je jednorázový produkt. MTS™ je pouze pro diagnostické použití in vitro a je určeno pro profesionální použití. Stripy musí být používány v laboratoři řádně vyškolenou obsluhou, která používá schválené aseptické a bezpečnostní postupy pro patogenní mikroorganismy.

Materiál, který není součástí balení:

- Agarové plotny s médiem (médiá určená výrobcem pro stanovení antimikrobiální citlivosti, plotny s průměrem 90 nebo 150 mm)
- Suspenzní médium
- Zákalový standard pro McFarland
- POZNÁMKA: Médium, které má být použito, stejně jako suspenze inokula bude záviset na testovaném organismu, viz MTS™ Aplikační příručka.
- Sterilní kličky, tampony (ne příliš těsně spřádané), zkumavky, pipety a nůžky
- Pinzeta
- Inkubátor ($35 \pm 2\text{ °C}$)
- Kontrolní kmeny (CultiControl™)
- Další technické informace na www.liofilchem.com

Příprava inokula

Suspendujte dobře izolované kolonie z agarové plotny inkubované přes noc do suspenzního média tak, abyste dosáhli doporučeného McFarland zákalu. Pokud je koncentrace inokula správná, po inkubaci získáte souvislý nárůst. Pokud je růst nedostatečný, testování by mělo být opakováno.

Zákalové standardy McFarlanda nezaručují správný počet životaschopných buněk v suspenzi. Za účelem ověření, že Váš postup udává správnou hustotu inokula z hlediska CFU/ml doporučujeme provádět kontrolu pravidelným počítáním kolonií. Přijatelné inokulum by mělo dávat přibližně $1-2 \times 10^8$ CFU/ml.

Inokulace

Ponořte sterilní tampon do kultury v bujónu nebo do její zředěné formy a přitlačte jej na stěnu zkumavky tak, aby se odstranila přebytečná kapalina. Potřete tamponem celý sterilní agarový povrch. Tento postup opakujte ještě 2krát, s otočením plotny přibližně o 60 stupňů po každé inokulaci. Tím bude zajištěno rovnoměrné navrstvení inokula. Nechte přebytečnou vlhkost absorbovat tak, aby byl povrch zcela suchý před použitím MTS™.

Používejte dobře definovaná, vysoce kvalitní média, která podporují dobrý růst. Zvolená značka by měla mít dobrou reprodukovatelnost mezi jednotlivými šaržemi, aby byla zajištěno získání přesných a spolehlivých hodnot MIC.

Ujistěte se, že agarová plotna má hloubku $4,0 \pm 0,5$ mm, pH $7,3 \pm 0,1$ a splňuje specifikace kvality.

Aplikace stripu

Položte strip na povrch agarů tak, aby stupnice směřovala nahoru a kód proužku na vnější stranu plotny. Zatlačte jej sterilní pinzetou do povrchu agarů, je třeba zajistit, aby celá délka antibiotického gradientu byla v úplném kontaktu s povrchem agarů. Po aplikaci stripu na povrch plotny s ním už nepohybujte.

Inkubace

Agarové plotny inkubujte v obrácené poloze při vhodné teplotě, atmosféře a po určenou dobu. Viz MTS™ Aplikáční příručka.

Testovací podmínky MTS™ pro většinu běžných organismů jsou uvedeny v následující tabulce. Pro další informace o konkrétních aplikacích nahlédněte do dokumentů MTS™, které jsou k dispozici na webu www.liofilchem.com/MTS.

Skupina organismů	Agarové médium	Inokulum		Inkubace		
		Médium	Zákal	Teplota	Atmosféra ⁶	Doba kultivace ⁸
Aerobní MO	Mueller Hinton 2, 3, 4, 5	0.85% NaCl	0.5 McFarland (1 pokud jsou mukoidní)	$35 \pm 2^\circ\text{C}$	běžná	16-20 hodin ⁹
ORSA/ORSE	Mueller Hinton + 2% NaCl (pouze MTS™ oxacillin)	0.85% NaCl	0.5 McFarland	$35 \pm 2^\circ\text{C}$	běžná	24 hodin ORSA 48 hodin ORSE
Anaeroby	Brucella Blood	Brucella bujón nebo Mueller Hinton bujón	1 McFarland	$35 \pm 2^\circ\text{C}$	80-85 N ₂ / 5-10% CO ₂ / 10% H ₂ ⁷	24-48-72 hodin v závislosti na kmenu
<i>Haemophilus influenzae</i>	HTM (CLSI) MH-F (EUCAST)	Mueller Hinton Bujón nebo HTM bujón	0.5 McFarland (1 pokud jsou mukoidní)	$35 \pm 2^\circ\text{C}$	5% CO ₂	20-24 hodin
<i>Streptococcus pneumoniae</i> a <i>Streptococci</i> ¹	Mueller Hinton + 5% blood (CLSI) MH-F (EUCAST)	Mueller Hinton bujón	0.5 McFarland (1 pokud jsou mukoidní)	$35 \pm 2^\circ\text{C}$	5% CO ₂	20-24 hodin
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Základ GC-agar + definované suplementy	Mueller Hinton bujón	0.5 McFarland	$35 \pm 2^\circ\text{C}$	5% CO ₂	20-24 hodin

¹ Zahnuje beta-hemolytické streptokoky skupiny A, B, C a G a viridující skupiny *S. mutant*, *S. mitis*, *S. sanguis* a *S. bovis*.

² U trimethoprimu a trimethoprimu/sulfamethoxazolu se ujistěte, že značka a šarže agarů má nízký obsah thyminu/thymidinu, aby se minimalizoval antagonismus aktivity trimethoprimu a sulfonamidů.

³ Vlastní obsah vápníku v Mueller Hinton agarů se může u jednotlivých značek a šarží lišit. Provádějte kontrolu kvality agarových ploten u každé šarže pro jeho ověření, zejména při testování daptomycinu.

⁴ Vlastní obsah manganu v Mueller Hinton agarů se může u jednotlivých značek a šarží lišit. Provádějte kontrolu kvality agarových ploten u každé šarže pro jeho ověření, zejména při testování tigecyklinu.

⁵ Účinnost makrolidů a aminoglykosidů MTS™ u aerobními mikroorganismy byla validována a je zaručena u půd výrobce Liofilchem a BBL/BD Mueller Hinton II Agar.

⁶ Aktivita makrolidů, linkosamidů, streptograminů, aminoglykosidů, chinolonů, penicilinů a tetracyklinů může být u náročnějších mikroorganismů ovlivněna poklesem pH v důsledku inkubace 5 % CO₂. Proto se může stát, že v případech inkubace v běžné atmosféře a v atmosféře obohacené CO₂, může být rozdíly v získaných výsledcích.

⁷ Zajistěte, aby se k dosažení rychlé anaerobiózy používal účinný anaerobní systém tak, aby se zabránilo falešně rezistentním výsledkům s metronidazolem.

⁸ Před odečtem se ujistěte, že je agarová plotna inkubována po doporučenou dobu, zejména pro opožděné vyjádření rezistence a pomalého růstu u náročných mikroorganismů.

⁹ Výsledky MTS™ vankomycinu jsou u stafylokoků a enterokoků interpretovány po 24 hodinách inkubace.

Odečet MIC

Po požadované inkubační době a pouze v případě, že je zřetelně viditelný rovnoměrný nárůst a pokud relevantní inhibiční eliptická zóna protíná strip, odečtěte hodnotu MIC. Plotnu neodečítejte, pokud se kultura zdá smíšená nebo pokud je nárůst příliš malý nebo jsou naopak misky přerostlé.

POZNÁMKY:

- Antimikrobiální léčiva mohou být v principu buď "-statická" (např. bakteriostatická, fungistatická) nebo "-cidní", a to je třeba vzít v úvahu při správném určování koncového bodu MIC. U baktericidních přípravků, např. betalaktamů, se odečítá MIC v bodě úplné inhibice veškerého růstu. Míha a makrokolonie nebo mikrokolonie do 3 mm od stripu by měly být čteny jako růst. U bakteriostatických léčiv, např. trimethoprim-sulfamethoxazolu, se v koncový bod odečítá při 80% inhibici, tzn. odečítá se významná vizuálně posouzená inhibice. Další informace naleznete v dokumentu MTS30.
- Růst podél celého gradientu, tzn. nevytvoření eliptické inhibiční zóny, znamená, že hodnota MIC je větší nebo rovna (\geq) nejvyšší hodnotě na stupnici. Inhibiční elipsa, která se protíná pod dolním koncem stupnice, se čte jako menší než ($<$) nejnižší hodnota. Pokud zóna protíná stupnici mezi dvěma dílky stupnice, měla by být hodnota MIC zaokrouhlena nahoru na vyšší hodnotu. MIC 0,125 $\mu\text{g/ml}$ se považuje pro potřeby reportování jako ekvivalentní 0,12 $\mu\text{g/ml}$. Viz příslušné technické listy MTS™, například specifické fotografie léčiva a mikroorganismu. Další informace naleznete také v dokumentu Fotografický průvodce MTS™.
- Nadměrně vlhké plotny před očkováním, nedostatečné sušení před nanesením proužků a/nebo nerovnoměrně naočkované povrchy mohou způsobit nesouvislý růst nebo zubaté okraje elipsy. Opakujte test, pokud jsou koncové body MIC obtížně odečitatelné. V případě nerovného křížení elipsy se stripem, je nutné odečítat vyšší hodnotu MIC. Test se opakuje, pokud je nesoulad >1 ředěním.
- Příležitostně mohou určité kombinace antimikrobiální látky a mikroorganismu poskytnout neobvyklé výsledky. V těchto případech může být posouzení koncového bodu MIC koncový bod pro nezkušený personál obtížný. Jednotlivci však mohou být vyškoleni pravidelným používáním kontrolních kmenů, přečtením příručky MTS™ a srovnáním se zkušeným personálem pro správné posouzení koncových bodů MIC.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Chcete-li kategorizovat výsledek jako citlivý, intermediální nebo rezistentní, podívejte se na aktuální hraniční hodnoty MIC publikované CLSI, EUCAST a/nebo vaší národní referenční skupinou. Přehled interpretačních kritérií je uveden v Tabulce 1 (online). Pokud MTS™ generuje hodnoty MIC, které spadají mezi dvojnásobná ředění, hodnota MIC musí být před kategorizací zaokrouhlena nahoru na další standardní horní dvojnásobnou hodnotu. Například MIC vancomycin S. aureus o hodnotě 1.5 $\mu\text{g/mL}$ se vykazuje jako 2 $\mu\text{g/mL}$.

U testů rezistence, což jsou metody fenotypového potvrzení určené pro standardní stanovení MIC, čtete výsledek MTS™ dle instrukcí konkrétního návodu k použití.

POZNÁMKY:

- Stejně jako u všech AST dat, jsou výsledky MTS™ pouze hodnoty in vitro a mohou poskytovat indikaci potenciální citlivosti organismu in vivo. Použití výsledků jako vodítko pro výběr léčby je výhradním rozhodnutím a odpovědností ošetřujícího lékaře. Jejich úsudek je založen na anamnéze a znalosti pacienta, farmakokinetice/farmakodynamice antimikrobiálních látkách a klinických zkušenostech s léčbou infekcí způsobených konkrétním mikrobiálním patogenem. Rovněž je třeba vzít v úvahu lék, dávku a dávkovací režim.
- Podrobnosti o konkrétních interpretačních omezeních a/nebo omezeních klinického použití antimikrobiální látky v různých terapeutických situacích naleznete v tabulkách a poznámkách pod čarou interpretačních kritérií MIC v nejnovějším dokumentu CLSI a EUCAST.

LIKVIDACE POUŽITÝCH MATERIÁLŮ

Po použití musí být plotny a veškeré materiály, které byli v kontaktu se vzorkem, dekontaminovány a zlikvidovány laboratorními technikami pro likvidaci potenciálně infekčního materiálu.

KONTROLA KVALITY

Chcete-li zkontrolovat výkonnost výsledku MTS™, testujte kontrolní kmen(y), jak ukazuje Tabulka 1 (online). Výsledky izolátů pacientů jsou považovány za uspokojivé, pokud výsledky kontroly kvality spadají do očekávaného rozsahu (rozsahů). Výsledky izolátů pacientů by neměly být reportovány, pokud jsou výsledky kontroly kvality mimo uvedený rozsah kontroly kvality. Výsledky MIC pro kontrolní kmen, který spadá polovinou ředění pod spodní limit kontroly kvality, by měl být zaokrouhlen nahoru na nejbližší vyšší dvojnásobnou hodnotu, která je ve shodě s kontrolou kvality. Výsledky MIC které jsou polovinou ředění nad vyšším limitem by měly být zaokrouhleny na další horní dvojnásobnou hodnotu, což by vedlo k neshodě s kontrolou kvality.

OMEZENÍ

Viz technický list MTS™ pro dané antibiotikum.

OČEKÁVANÉ HODNOTY

Očekávané výsledky testů citlivosti se budou lišit v závislosti na místě a instituci. rezistence mikroorganismu bude přímo souviset s populací mikroorganismů v každé oblasti.








VÝKONOVÉ CHARAKTERISTIKY

Viz technický list MTS™ konkrétního antibiotika.

LITERATURA

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

TABULKA SYMBOLŮ

 Nepoužívejte opakovaně	LOT Šarže	 Výrobce	IVD In vitro diagnostika	 Horní limit teploty
 Exspirace	REF Katalogové číslo	 Počet kusů v balení	 Teplotní limitace	 Viz návod k použití

Více informací o konkrétních aplikacích, lécích a kombinacích léků a mikroorganismů naleznete na:
Liofilchem.com/MTS

Liofilchem®, logo společnosti Liofilchem a logo MTS jsou registrované ochranné známky společnosti LIOFILCHEM s.r.l.

MIC Test Strip
Mezinárodní patent



LIOFILCHEM® s.r.l.

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



V USA k dispozici produkty označené
v katalogu MTS jako „FDA Cleared“