

Nr kat.: 10020285

Do celów mikrobiologicznych

Zestaw przeznaczony jest do oznaczenia wrażliwości na antybiotyki bakterii niefermentujących na podstawie wzrostu bakterii w przypadku stężeń break-pointowych (wartości granicznych minimalnych stężeń hamujących). Zestaw umożliwia przeprowadzenie 60 badań. Stężenia break-pointowe i interpretacje wrażliwości powstały na podstawie europejskiego standardu Eucast (www.eucast.org) z dnia 05.01.2011. Test oparty jest na zasadzie ponownego nawodnienia antybiotyków w studzienkach za pomocą Nośnika zawiesiny dla SENSILATEST i dodaniu zawiesiny bakterii. Po 18-24 godzinach inkubacji wyniki odczytywane są wizualnie.

Zestaw zawiera:

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

Aby uniknąć etapu samodzielnego przygotowania nośnika zawiesiny z jego odwodnionej postaci (dostarczonego w zestawie), można zamówić nośnik gotowy do użycia. Gotowy nośnik dostępny jest pod Nr kat. 10020286 - Nośnik zawiesiny do SENSILATEST; każde opakowanie zawiera 20 próbek z nośnikiem zawiesiny do SENSILATEST (1 próbówka przeznaczona jest do 1 paska dowolnego zestawu SENSI-LA-TEST i zawiera 4,4 ml gotowego nośnika zawiesiny).

Przechowywanie i data ważności zestawu:

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

Przechowywanie i data ważności Nośnika zawiesiny dla SENSILATEST:

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

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

- Roztwór sterylnej soli fizjologicznej
- Probówki sterylne
- Pipeta dozująca na 100 µl
- Pipeta na 20 µl
- Densytometr (np. Densi-La-Meter II, Erba Lachema)
- Ciepłarka 37 °C
- Podstawowe wyposażenie laboratoryjne (ezy, markery, palnik, itd.)

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

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

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

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

Aby uniknąć etapu samodzielnego przygotowania nośnika zawiesiny z jego odwodnionej postaci (dostarczonego w zestawie), można zamówić nośnik gotowy do użycia. Gotowy nośnik dostępny jest pod Nr kat. 10020286 - Nośnik zawiesiny do SENSILATEST; każde opakowanie zawiera 20 próbek z nośnikiem zawiesiny do SENSILATEST (1 próbówka przeznaczona jest do 1 paska dowolnego zestawu SENSI-LA-TEST i zawiera 4,4 ml gotowego nośnika zawiesiny).

Przygotowanie Nośnika zawiesiny dla SENSILATEST:

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

Sposób postępowania z zestawem:

- 1) Przygotować próbówkę z 2 - 5 ml sterylnego roztworu soli fizjologicznej pH 5,5 – 6,5.
- 2) Przygotować próbówkę z Nośnikiem zawiesiny dla SENSILATEST optymalnie ogrzanym do temp. 37 °C
- 3) Z 18 – 24 godzinnej kultury na agarze krwawym pobrać kilka kolonii i przygotować w roztworze soli fizjologicznej zawiesinę bakteryjną o gęstości 0,5 McF. (Uwaga: Zastosowanie zawiesiny z wyższą gęstością jest mniejszym błędem niż zastosowanie inokulum, którego gęstość jest niewystarczająca.)
- 4) Pipetować 20 µl zawiesiny bakteryjnej do 4,4 ml Nośnika zawiesiny dla SENSILATEST i dokładnie homogenizować.

Inokulacja:

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

Wpisać numery badanych kultur na odpowiednie paski.

Inokulować 100 µl zawiesiny przygotowanej w Nośniku zawiesiny dla SENSILATEST do każdej studzienki paska, najlepiej za pomocą pipety dozującej.

Inkubacja:

Płytkę po inokulacji włożyć do PE torebki, zagiąć otwarty brzeg torebki pod płytkę, aby zapobiec wysychaniu inokulum.

Płytkę włożyć do ciepłarki w temp. 37 °C na 18 – 24 godz.

W przypadku wolniej rosnących szczepów *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia complex* a także *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych od pacjentów z fibrozją cystyczną zaleca się przedłużyć inkubację o kolejne 24 godziny w temperaturze pokojowej.

Ocena:

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

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



Prosimy o zwrócenie uwagi:

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

H	G	F	E	D	C	B	A
Kontrola wzrostu	Ceftazydym	Cefepim	Meropenem			Amikacyna	
GC	CAZ 8	CEP 8	MER 2	MER 4	MER 8	AMK 8	AMK 16
Ciprofloksacyna		Trimetoprim / sulfametoksazol		Kolistyna		Piperacylina / tazobactam	Gentamicyna
CIP 0,5	CIP 1	T/S 2/38	T/S 4/76	COL 2	COL 4	PIT 16/4	GEN 4

Interpretacja:

Kontrola wzrostu	GC	+										Wyniki (+/-)			Ocena (S, I, R)			
Amikacyna	AMK	-	-		S	+	-			I	+	+		R				
Cefepim	CEP	-			S						+			R		x	x	
Ceftazydym	CAZ	-			S						+			R		x	x	
Ciprofloksacyna	CIP	-	-		S	+	-			I	+	+		R			x	
Kolistyna	COL	-	-		S	+	-			I	+	+		R			x	
Gentamicyna	GEN	-			S						+			R		x	x	
Meropenem	MER	-	-	-	S	+	+/-	-		I	+	+	+	R				
Piperacylina / tazobactam	PIT	-			S						+			R		x	x	
Trimetoprim / sulfametoksazol	T/S	-	-		S	+	-			I	+	+		R			x	

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

Uwagi do interpretacji:

Oporność na meropenem zwraca uwagę na możliwość wytwarzania metallobetalaktamazy (MBL) lub inny mechanizm oporności. Należy oznaczyć wrażliwość na IMI (ERT jest zawsze oporne). Wg możliwości laboratorium oznaczyć produkcję MBL.

Pseudomonas aeruginosa interpretować jako oporny na trimetoprim / sulfametoksazol także w przypadku, że stwierdzono wrażliwość „in vitro”

W zależności na krajowych lub laboratoryjnych standardach można zastosować kolejne kryteria EUCAST Expert rules in antimicrobial susceptibility testing (www.eucast.org)

Kontrola jakości:

Dla kontroli jakości zestawu zalecamy poniżej wymieniony szczep kontrolny. Podczas oceny wyników testowania szczepami kontrolnymi należy kierować się standardem EUCAST.

CCM 3954 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)							
GC +	CAZ – 8	CEP – 8	MER – 2	MER – 4	MER – 8	AMK – 8	AMK – 16
CIP – 0,5	CIP – 1	T/S – 2/38	T/S – 4/76	COL – 2	COL – 4	PIT – 16/4	GEN – 4

+ wzrost – brak wzrostu

Ewentualnie także szczepy:

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

CCM 4223 *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)

Likwidacja zużytego materiału:

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

Producent: Erba Lachema s.r.o., Karásek 1d, 621 00 BRNO, REPUBLIKA CZESKA

Przedstawicielstwo w Polsce: ERBA POLSKA Sp. z o.o., ul. ŚW. FILIPA 23/4, KRAKÓW, 31-150, Polska, tel.kom. +48 510 251 115, e-mail: tvrdon@erbalachema.com.

UŻYTE SYMBOLE



Numer Katalogowy



Producent



Patrz: Instrukcja Użycia



Numer Partii



Temperatury Graniczne



Termin Ważności



Urządzenie Diagnostyczne in Vitro



Zawartość



Urządzenie zgodne z Dyrektywą 98/79/EC

Data ostatniej rewizji: 1.11. 2015

Кат. No.: 10020285

Для микробиологии

Набор предназначен для определения антимикробной чувствительности неферментирующих бактерий на основе определения бактериального роста при пограничных (break-point) концентрациях антибиотика и рассчитан на 60 культур.

Выбор концентраций антибиотика и интерпретация результатов основаны на европейских стандартах EUCAST (www.eucast.org) от 05.01.2011. Методика включает регидратирование лунок с антибиотиками с помощью суспензионной среды и внесение в них бактериальной суспензии. Результаты чувствительности микроорганизмов учитывают после инкубации в течение 18-24 ч (48 ч – для медленно растущих микроорганизмов) визуально или фотометрически по наличию бактериального роста в микролунках планшета.

Набор включает:

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

Если при работе с набором Вы не хотите или не имеете возможность самостоятельно готовить суспензионную среду из навески, входящей в набор, мы предлагаем использовать готовую (жидкую, стерильную) суспензионную среду для СЕНСИ-ЛА-ТЕСТОВ (кат. номер 10020286).

Среда разлита в стеклянные пробирки по 4,4 мл, в упаковке 20 пробирок (на 20 определений соответственно).

Хранение и срок годности набора:

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

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

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

Вскрытые пакеты следует хранить только при комнатной температуре.

Хранение и срок годности суспензионной среды:

Сухая суспензионная среда хранится при температуре 15-25°C до достижения предельного срока годности, обозначенного на упаковке. Приготовленную суспензионную среду можно использовать в течение 6 мес. при температуре 15-25°C. Не следует хранить приготовленную среду при более низкой температуре, так как это может привести к образованию геля. Если же гель образовался, согреть среду при комнатной температуре и встряхнуть перед использованием. Для дальнейшей работы суспензионную среду можно разлить в стерильные пробирки по 4,4 мл.

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

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

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

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

ВНИМАНИЕ: Набор предназначен только для профессионального использования!

Соблюдайте правила при работе с инфекционным материалом!

Методика исследования антибиотикочувствительности с применением СЕНСИ-ЛА-ТЕСТ НЕФЕРМ

ВНИМАНИЕ: Перед началом исследования приготовьте суспензионную среду!

Если при работе с набором Вы не хотите или не имеете возможность самостоятельно готовить суспензионную среду из навески, входящей в набор, мы предлагаем использовать готовую (жидкую, стерильную) суспензионную среду для СЕНСИ-ЛА-ТЕСТОВ (кат. номер 10020286).

Среда разлита в стеклянные пробирки по 4,4 мл, в упаковке 20 пробирок (на 20 определений соответственно).

Приготовление суспензионной среды:

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

Приготовление бактериальной суспензии:

1. Приготовить пробирки с 2 - 5 мл физиологического раствора pH 5,5–6,5.
2. Приготовить пробирки с 4,4 мл суспензионной среды с оптимальной для процедуры температурой 37°C.
3. Сняв несколько колоний 18-24 часовой культуры с кровяного агара и в физиологическом растворе приготовить бактериальную суспензию плотностью: 0,5 McF. **Приготовление суспензии более высокой степени мутности менее критично для получаемых результатов, чем менее густая суспензия.**
4. Для приготовления инокулюма в пробирки с суспензионной средой (4,4 мл) добавить 20 мкл бактериальной суспензии.

Инокуляция: Удалите алюминиевую упаковку с планшета. **Внимание! Не вскрывать упаковку планшета ранее, чем за 30 мин до начала инокуляции, чтобы предотвратить негативное влияние влажности на антибиотики.** Отломите необходимое для исследования количество стрипов. Неиспользуемые стрипы и осушитель сразу поместите в пакет для хранения и плотно закройте пластиковую застёжку. При переключении неиспользованных стрипов в пакет для хранения необходимо написать на нем название набора, дату вскрытия/дату окончания срока хранения (например, Г-I или Г-II, вскрыто 01.09.11, использовать до 09.09.11), чтобы избежать возможных ошибок в дальнейшем.

Длительное хранение вскрытого планшета может привести к полной потере активности антибиотиков!

После вскрытия упаковки используйте стрипы в течение 8 дней!

На стрипе напишите номер исследуемого штамма. Наряду с номером анализа на стрипе необходимо указать и название набора (например, Г-I или Г-II), чтобы избежать возможных ошибок при учете результатов после инкубации.

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

Инкубация:

Заполненный планшет вложите в полиэтиленовый пакет, подвернув край пакета для предотвращения испарения во время инкубации (при 37°C в течение 18–24 ч). В случае выделения медленно растущих штаммов *Stenotrophomonas maltophilia* и *Burkholderia cepacia* инкубацию следует продлить до 48 ч, если это необходимо. В таком случае планшет надо инкубировать при комнатной температуре.

Учет результатов:

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

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

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

ВНИМАНИЕ!

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

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

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

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

H	G	F	E	D	C	B	A
Контроль роста	Цефтазидим	Цефепим	Меропенем			Амикацин	
GC	CAZ 8	CEP 8	MER 2	MER 4	MER 8	AMK 8	AMK 16
Ципрофлоксацин		Триметоприм / сульфаметоксазол		Колистин		Пиперациллин / тазобактам	Гентамицин
CIP 0,5	CIP 1	T/S 2/38	T/S 4/76	COL 2	COL 4	PIT 16/4	GEN 4

Таблица интерпретации:

контроль роста	KP	+										Результат: +/-			Оценка (S,I,R)		
амикацин	AMK	-	-		S	+	-		I	+	+		R				
цефепим	CEP	-	-		S					+			R	x	x		
цефтазидим	CAZ	-	-		S					+			R	x	x		
ципрофлоксацин	CIP	-	-		S	+	-		I	+	+		R			x	
колистин	COL	-	-		S	+	-		I	+	+		R			x	
гентамицин	GEN	-	-		S					+			R	x	x		
меропенем	MER	-	-	-	S	+	+/-	-	I	+	+	+	R				
пиперациллин / тазобактам	PIT	-	-		S					+			R	x	x		
триметоприм / сульфаметоксазол	T/S	-	-		S	+	-		I	+	+		R			x	

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

Интерпретация результатов:

Устойчивость к **меропенему** может свидетельствовать о продукции металлотебалактамаз (МЛБ) или наличии других механизмов резистентности. В таком случае необходимо определить чувствительность к **имипенему** (к **эртапенему** – природная устойчивость). Если возможно, следует определить продукцию МЛБ (например, дисками с ЭДТА).

Pseudomonas aeruginosa природно устойчива к триметоприму/сульфаметоксазолу, поэтому даже при получении чувствительности in vitro результат должен быть выдан как „резистентный“.

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

Контроль качества:

Для проведения внутреннего контроля качества могут быть использованы следующие контрольные штаммы.

Предпочтение следует отдать результатам по контрольным штаммам, указанным в рекомендациях EUCAST.

CCM 3954 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)							
GC +	CAZ – 8	CEP – 8	MER – 2	MER – 4	MER – 8	AMK – 8	AMK – 16
CIP – 0,5	CIP – 1	T/S – 2/38	T/S – 4/76	COL – 2	COL – 4	PIT – 16/4	GEN – 4

+ Наличие роста – Отсутствие роста

Другие рекомендуемые штаммы:

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

CCM 4223 *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)

ATCC – American Type Culture Collection (Американская коллекция микроорганизмов)

CCM – Чешская коллекция микроорганизмов

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

Меры предосторожности:

Компоненты набора не содержат опасных веществ.

Дезинфекция:

После употребления тест-системы подлежат обеззараживанию в дезинфицирующем растворе либо автоклавированию.

Бумажную упаковку сдайте в макулатуру.

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ

Номер каталога

Производитель

Перед использованием
внимательно изучайте инструкцию

Номер партии

Знак CE – соответствие
Директиве 98/79/ЕС

Температура хранения

Срок годности

Ин витро диагностика

Содержание

Национальный знак
соответствия для Украины

Дата проведения последнего контроля: 1.11. 2015

Cat. No.: 10020285

For microbiology

The kit is designed to test antimicrobial susceptibility of non-fermenting bacteria on the basis of bacterial growth at breakpoint concentrations. The kit contains 60 detection strips.

Breakpoint concentrations and interpretation of sensitivities were determined on the basis of the European standard EUCAST (www.eucast.org) dated from 5.1.2011. The test is based on the rehydration of antibiotics in the wells with Suspension medium for SENSILATEST and addition of bacterial suspension. The results are read visually after 18-24 hours of incubation or 48 hours in slow growing strains of some species.

The kit contains:

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

To avoid preparation of suspension media from dehydrated form, it is possible to order ready to use media. Ready to use media are available as item 10020286 - Suspension medium for SENSILATEST. Each kit contains 20 glass tubes. One tube contains 4.4 ml of suspension media, which allows one examination on any type of SENSILATEST strip.

Storage and expiration of the kit:

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

Storage and expiration of Suspension medium for SENSILATEST:

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

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

- Sterile physiological solution
- Sterile tubes
- An stepper pipette for dosage of 100 µl
- A pipette for dosage of 20 µl
- Densitometer (e.g. Densi-La-Meter II, Erba Lachema)
- Incubator 37 °C
- Regular microbiological laboratory equipment (loops, marker, burner, etc.)

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

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

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

Instructions for Use**Caution:** *Prepare the Suspension medium for SENSILATEST before you start testing!*

To avoid preparation of suspension media from dehydrated form, it is possible to order ready to use media. Ready to use media are available as item 10020286 - Suspension medium for SENSILATEST. Each kit contains 20 glass tubes. One tube contains 4.4 ml of suspension media, which allows one examination on any type of SENSILATEST strip.

Preparation of Suspension medium for SENSILATEST:

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

Instructions to use the kit:

- 1) Prepare a tube with 2 - 5 ml of physiological solution of pH 5.5 – 6.5.
- 2) Prepare a tube with Suspension medium for SENSILATEST optimally preheated to 37 °C.
- 3) Remove few colonies from 18 – 24 hour culture on blood agar and prepare a bacterial suspension of density of 0.5 on McF scale in physiological solution.
Overestimation of suspension density is smaller error than its underestimation.
- 4) Inoculate 20 µl of bacterial suspension into 4.4 ml of Suspension medium for SENSILATEST and homogenise well.

Inoculation:

Remove a plate from aluminium bag. Remove required number of strips for examination. Do not remove the strips from the package earlier than 30 minutes before you start the work. Insert any unused strips into a ZIP log bag. Transfer a desiccant bag from the original package into a ZIP log bag and close it for later use. Mark the storage bag with a type of stored strips (e.g. G-I, G-II etc.) to avoid mistake in their further usage. **Use the strips stored in this way within 8 days! Don't leave opened strips unprotected!!! Exposition to open air leads to antibiotic activity failure!!!**

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

Inoculate 100 µl of suspension in Suspension medium for SENSILATEST into each well of the strip with the help of automatic stepper pipette.

Incubation:

Insert the inoculated plate into a PE bag. Fold the open end of the bag under the plate to prevent evaporation during the incubation. Incubate the plate at 37 °C for 18 – 24 hours. It was observed, that in some slowly growing strains of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia* prolongation of incubation up to 48 hours is necessary. If prolongation is necessary incubate another 24 hours under room temperature.

Evaluation:

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

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



Please read with attention:

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

H	G	F	E	D	C	B	A
Growth control	Ceftazidim	Cefepim	Meropenem			Amikacin	
GC	CAZ 8	CEP 8	MER 2	MER 4	MER 8	AMK 8	AMK 16
Ciprofloxacin		Trimetoprim / sulfamethoxazol		Colistin		Piperacilin / tazobactam	Gentamicin
CIP 0,5	CIP 1	T/S 2/38	T/S 4/76	COL 2	COL 4	PIT 16/4	GEN 4

Interpretation table:

Growth control	GC	+										Results (+/-)			Evaluation (S,I,R)		
Amikacin	AMK	-	-		S	+	-		I	+	+		R				
Cefepim	CEP	-	-		S					+			R	x	x		
Ceftazidim	CAZ	-	-		S					+			R	x	x		
Ciprofloxacin	CIP	-	-		S	+	-		I	+	+		R			x	
Colistin	COL	-	-		S	+	-		I	+	+		R			x	
Gentamicin	GEN	-	-		S					+			R	x	x		
Meropenem	MER	-	-	-	S	+	+/-	-	I	+	+	+	R				
Piperacilin / tazobactam	PIT	-	-		S					+			R	x	x		
Trimetoprim / sulfamethoxazol	T/S	-	-		S	+	-		I	+	+		R			x	

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

Resistance to MER indicates possibility of metalloβ-lactamase production (MBL) or some other mechanism of resistance. It is necessary to determinate sensitivity to **IMI** (**ERT** is always resistant). If possible determinate MBL production.

Pseudomonas aeruginosa should be interpreted as resistant to trimetoprim / sulphamethoxazol even when founded sensitive „in vitro“

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

Quality control:

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

CCM 3954 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)							
GC +	CAZ – 8	CEP – 8	MER – 2	MER – 4	MER – 8	AMK – 8	AMK – 16
CIP – 0,5	CIP – 1	T/S – 2/38	T/S – 4/76	COL – 2	COL – 4	PIT – 16/4	GEN – 4

+ growth – no growth

Other recommended control strains:

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

CCM 4223 *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)

ATCC – American Type Culture Collection

CCM – Czech Collection of Microorganisms

Health protection:


Components of the kit do not contain any dangerous substances.

Disposal of the used material:

Insert the used plate into the vessel intended for the infectious material and autoclave or destroy it by incineration.

Put paper packaging waste to recycling.

USED SYMBOLS

 Catalogue Number

 Manufacturer

 See Instruction for Use


 Lot Number

 CE Mark - Device comply with the Directive 98/79/EC

 Storage Temperature

 Expiry date

 In vitro Diagnostics

 Content

Date of last revision: 1.11. 2015