

ASTD

ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TEST DISCS

KRĄŻKI DO BADANIA LEKOWRAŻLIWOŚCI BAKTERII METODĄ BAUER-KIRBY I ERRICSON SHERRIS ZGODNIE Z ZALECENIAMI EUCAST I/LUB CLSI

WIELKOŚĆ OPAKOWANIA

1 x 50 krążków (1 rurka) - rurka umieszczona w opakowaniu typu blister zawierającym indywidualny środek suszący (pochłaniacz wilgoci)

5 x 50 krążków (5 rurek) - rurki umieszczone w szczelnie zamykanym tubusie zawierającym środek suszący lub opakowania typu blister w kartoniku zbiorczym

WSTĘP

Krążki do antybiogramów stosuje się do klasyfikowania bakterii pod względem lekooporności (wrażliwe, średnio wrażliwe, odporne). Uzyskane w ten sposób informacje wykorzystywane są podczas terapii antybiotykowej.

Krążki powinny być używane zgodnie z przyjętymi standardami. Standardy te zostały opracowane na podstawie oryginalnej metodyki Bauer-Kirby [1] oraz zaleceń EUCAST [3]. Powszechnie uznana jest metodyka opublikowana przez the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI).

ZASADA METODY

Papierowe krążki, nasączone ściśle określoną ilością antybiotyku, umieszcza się na podłożu wzrostowym, na którym uprzednio posiano bakterie. Podczas inkubacji, antybiotyk dyfunduje z krążków do podłoża. W przypadku wrażliwości szczepów na antybiotyk, wokół krążka nie obserwuje się wzrostu bakterii. Na płytce widoczne są wówczas przeźroczyste strefy zahamowanego wzrostu w kształcie koła. Wrażliwość badanych szczepów na antybiotyk określa się na podstawie średnicy uzyskanej strefy zahamowanego wzrostu [1-3].

SKŁAD ZESTAWU

Krążki o średnicy 6mm, wykonane z wysokiej klasy papieru, nasączone ściśle określoną ilością antybiotyku bądź innego chemioterapeutyku. Obustronny nadruk na krążkach zawiera symbol antybiotyku, którym są nasączone oraz jego stężenie.

MATERIAŁY WYMAGANE LECZ NIE DOSTARCZONE

Podłoża mikrobiologiczne (dostępne w BioMaxima S.A.)

Szczepy wzorcowe (dostępne w BioMaxima S.A.)

Sprzęt laboratoryjny niezbędny do przeprowadzenia testów (densytometr)

PRZECHOWYWANIE

- Przechowywać krążki w oryginalnych opakowaniach w temperaturze podanej na opakowaniu.
- Po wyjęciu z lodówki, przed użyciem umieścić krążki w temperaturze pokojowej na 1-2 godziny, w celu pozbycia się wilgoci.
- Jeśli rurki z krążkami znajdują się w lodówce, która często jest otwierana (co powoduje trudności w utrzymaniu żądanej temperatury), wówczas należy umieścić w niej taką ilość krążków, która zostanie zużyta w ciągu tygodnia.
- Temperatura przechowywania krążków antybiotykowych -20°C do +8°C (podana na opakowaniu). Niektóre antybiotyki (np. β-laktamowe) należy przechowywać w -20°C.
- Krążki o najkrótszej dacie ważności muszą być zużyte w pierwszej kolejności. Nie używać krążków po terminie ważności. Rurki, z których krążki były często pobierane w okresie 7-14 dni lub też były pozostawiane na noc poza lodówką, także nie powinny być użyte do badań. Należy sprawdzić ich przydatność do użytku przy wykorzystaniu szczepów wzorcowych. Jeśli uzyskano wyniki mieszczące się w zakresie stref, można dopuścić krążki do dalszego użytku.
- W przypadku uzyskania nieprawidłowych stref zahamowania wzrostu podczas badania z wykorzystaniem szczepów wzorcowych, należy zweryfikować procedurę wykonywania antybiogramów. Nieprawidłowe wyniki mogą być spowodowane złym przechowywaniem krążków, jakością podłoża lub błędnie przeprowadzaną procedurą.

STABILNOŚĆ

Data ważności dotyczy wyłącznie krążków znajdujących się w zamkniętych opakowaniach, przechowywanych według zaleceń producenta podanych na opakowaniu.

WYKONANIE TESTU

- Przygotowanie zawiesiny bakterii (inoculum), o gęstości 0,5 McFarlanda (wg zaleceń EUCAST). Posiać zawiesinę na odpowiednie podłoże w ciągu maksymalnie **15 minut** od jej przygotowania.

- Posiew: Zanurzyć sterylną bawełnianą wymazówkę w przygotowanym inoculum. Odcisnąć z niej nadmiar zawiesiny (o ściankę probówki) a następnie trzykrotnie posiać wymazówką całą powierzchnię płytki, obracając płytkę o kąt 60° po każdym posiewie. Pozostawić zamknięte płytki do wyschnięcia na nie dłużej niż **15 minut**.
- Aseptycznie umieścić krążki na płytce. Odległość pomiędzy środkami krążków powinna wynosić minimum 24 mm. **Maksymalna ilość nakładanych krążków na płytkę: 90 mm – 6 krążków, na płytkę 150 mm – 12 krążków.** Żeby określić indukowaną oporność na klindamycynę u gronkowców i paciorkowców, krążki z erytromycyną i klindamycyną powinny być umieszczone w odległości 12-20 mm od krawędzi płytki.
- Umieścić płytki w ciągu 15 min od momentu nałożenia krążków na płytkę i inkubować w warunkach zalecanych przez EUCAST (patrz tabela poniżej).

Podłoża, temperatura, warunki oraz czas inkubacji zalecane przez EUCAST.

Gatunek	Podłoże	Temperatura	Warunki inkubacji	Czas inkubacji
<i>Enterobacteriaceae</i>	MH Agar (MH)	35 °C ± 1	Tlenowe	16 – 20 h
<i>Pseudomonas</i> spp.	MH Agar (MH)	35 °C ± 1	Tlenowe	16 – 20 h
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	MH Agar (MH)	35 °C ± 1	Tlenowe	16 – 20 h
<i>Burkholderia cepacia complex</i>				
<i>Acinetobacter</i> spp.	MH Agar (MH)	35 °C ± 1	Tlenowe	16 – 20 h
<i>Staphylococcus</i> spp.	MH Agar (MH)	35 °C ± 1	Tlenowe	16 – 20 h
<i>Enterococcus</i> spp.	MH Agar (MH)	35 °C ± 1	Tlenowe	16-20 h; 24 h dla glikopeptydów
<i>Streptococcus</i> spp. Grupy A,B,C,G	MH+5% KK+20 mg/l NAD (MH-F)	35 °C ± 1	5 % CO ₂	16 – 20 h
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	MH+5% KK+20 mg/l NAD (MH-F)	35 °C ± 1	5 % CO ₂	16 – 20 h
<i>Streptococcus</i> spp. <i>Group viridans</i>	MH+5% KK+20 mg/l NAD (MH-F)	35 °C ± 1	5 % CO ₂	16 – 20 h
<i>Haemophilus</i> spp.	MH+5% KK+20 mg/l NAD (MH-F)	35 °C ± 1	5 % CO ₂	16 – 20 h
<i>Moraxella catarrhalis</i>	MH+5% KK+20 mg/l NAD (MH-F)	35 °C ± 1	5 % CO ₂	16 – 20 h
<i>Listeria monocytogenes</i>	MH+5% KK+20 mg/l NAD (MH-F)	35 °C ± 1	5 % CO ₂	16 – 20 h
<i>Pasteurella multocida</i>	MH+5% KK+20 mg/l NAD (MH-F)	35 °C ± 1	5 % CO ₂	16 – 20 h
<i>Campylobacter jejuni</i> oraz <i>coli</i>	MH+5% KK+20 mg/l NAD (MH-F)	41 °C ± 1	Warunki mikroaerofilne	24 h, max. do 40-48h przy niedostatecznym wzroście
<i>Corynebacterium</i> spp. z wyjątkiem <i>Corynebacterium diphtheria</i>	MH+5% KK+20 mg/l NAD (MH-F)	35 °C ± 1	5% CO ₂	16 – 20 h, max. do 40-48h przy niedostatecznym wzroście
<i>Aerococcus sanguincola</i> i <i>urinae</i>	MH+5% KK+20 mg/l NAD (MH-F)	35 °C ± 1	5% CO ₂	16 – 20 h, max. do 40-48h

INTERPRETACJA

Zmierzone strefy zahamowania wzrostu interpretować w oparciu o standaryzowane dane (wg EUCAST, CLSI lub literaturę).

UWAGI

- Zastosowanie wyłącznie w diagnostyce *in vitro*.
- Używać zgodnie z wytycznymi, wszelkie odstępstwa od standaryzowanej metodyki mogą wpłynąć na fałszowanie wyników.
- Dokładność testu uzależniona jest od różnych czynników, m.in. od jakości krążków (stężenie), odpowiednio przygotowanego inoculum, odpowiedniego przygotowania podłoża na płytkach (rodzaj, grubość), techniki posiewu, temperatury i czasu inkubacji.
- Zaleca się rutynową kontrolę jakości krążków przy użyciu szczepów wzorcowych. W przypadku gdy strefy zahamowania wzrostu uzyskane dla szczepów wzorcowych są niezgodne z obowiązującymi standardami należy skontrolować zastosowaną procedurę badań.
- Zaleca się stosowanie zaktualizowanych standardów do interpretacji wyników.
- Szczepy wzorcowe z kolekcji ATCC do nabycia w BioMaxima S.A.



LITERATURA

1. Bauer AW, Kirby WMM, Sherris JC, Tuck M: Am J Clin Pathol 1966; 45: 492-496.
2. World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. Requirements for antibiotic susceptibility test: 1.: WHO Technical reports series No 610. Geneva: WHO, 1977.
3. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 10.0, January, 2020.

Aktualizacja: 08.2020 [BM]

STOSOWANE SYMBOLE GRAFICZNE - OBJAŚNIENIA:



- zawartość



- numer katalogowy



- przed użyciem zapoznać się z instrukcją



- wyrób do diagnostyki in vitro



- temperatura przechowywania



- producent



- numer serii



- data ważności

