

## BD Sensi-Disc Susceptibility Test Discs

### PRZEZNACZENIE

Krażki Sensi-Disc są przeznaczone do ilościowego badania wrażliwości często występujących bakterii szybko rosnących i niektórych patogenów bakteryjnych o wysokich wymaganiach odżywczych. Testy prowadzone w warunkach *in vitro* metodą dyfuzji na krążkach agarowych pozwalają na diagnostykę m.in.: *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Vibrio cholerae* oraz, z zastosowaniem zmodyfikowanej procedury, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* i innych paciorkowców.

Krażki Sensi-Disc do badań wrażliwości zawierające bacytracynę, oleandomycynę, nowobiocynę i polimiksynę B nie są przeznaczone do określania wrażliwości lub oporności izolowanych szczepów na potrzeby leczenia, a służą izolowaniu i (lub) różnicowaniu szczepów bakteryjnych. Krażki Sensi-Discs nasączone metronidazolem stosowano do badań przesiewowych izolowanych szczepów beztlenowców obligatoryjnych w kierunku oporności na metronidazol za pomocą metody rozcieńczeniowej. Dodatkowe informacje przedstawiono w przypisach do tabeli 1.

### ZASADY I OBJAŚNIENIE PROCEDURY

Metody dyfuzyjne na podłożach agarowych przy użyciu suszonych krążków bibułowych impregnowanych roztworami antybiotyków o określonych stężeniach opracowano w latach 40. zeszłego wieku. W celu ograniczenia zmienności w tych testach, Bauer i wsp. opracowali standaryzowaną procedurę z zastosowaniem podłoża testowego Mueller Hinton Agar.<sup>1,2</sup>

Krażki zawierające różne preparaty antybakteryjne nakłada się na powierzchnię płytek, na których posiano czyste hodowle szczepów pochodzących z próbek klinicznych. Stosuje się płytki Mueller Hinton Agar, Haemophilus Test Medium Agar (w przypadku hodowli *H. influenzae*), GC II Agar z IsoVitaleX (w przypadku hodowli *N. gonorrhoeae*) lub Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood (w przypadku hodowli *S. pneumoniae*, paciorkowców  $\beta$ -hemolizujących i zieleniących). Po zakończeniu inkubacji na płytkach należy zbadać strefy zahamowania otaczające krążki i porównać je z ustalonymi zakresami rozmiarów stref dla określonych środków przeciwbakteryjnych, w celu ustalenia środka (środków) pozwalających na skuteczne leczenie przeciwbakteryjne.

Szereg urzędów nadzorczych i organizacji opracowujących standardy opublikowało procedury referencyjne w oparciu o metodę Bauer-Kirby. Do najwcześniej opublikowanych i powszechnie uznawanych należą procedury opublikowane przez Urząd ds. Żywności i Leków USA (FDA)<sup>3</sup> i Światową Organizację Zdrowia.<sup>4,5</sup> Procedura została również uzgodniona i przyjęta, a następnie okresowo uaktualniana przez Komisję ds. Klinicznych Standardów Laboratoryjnych USA (NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards).<sup>6,7</sup> Aktualne zalecenia przedstawiono w najnowszym wydaniu dokumentacji NCCLS).

### ODCZYNNIKI

Krażki **Sensi-Disc** o średnicy 6 mm są impregnowane wysokiej jakości bibułą nasączoną określoną ilością antybiotyków lub chemioterapeutyków. Krażki są wyraźnie obustronnie oznakowane symbolami literowymi i liczbowymi oznaczającymi rodzaj i zawartość leku (zobacz wykres stężeń składników aktywnych). Zawartość leków w bibułach oznacza się metodami przyjętymi przez FDA lub metodami podobnymi bądź porównywalnymi z opublikowanymi w Federalnym Rejestrze USA.<sup>3</sup> Preparaty Sensi-Disc są dostarczane w kasetach zawierających po 50 krążków. Ostatni krążek w każdej kasecie nosi oznaczenie „X” i zawiera lek zgodnie z opisem. Kasety są przeznaczone do

stosowania z aplikatorami **BBL Sensi-Disc** – Single Disc Dispenser, 8-miejscowym aplikatorem do płytek Petriego 90 mm, samozamykającymi 6- i 8-miejscowymi aplikatorami do płytek 90 mm oraz samozamykającymi 12-miejscowymi aplikatorami do płytek 150 mm.

## ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

**IVD** . Wyłącznie do zastosowań profesjonalnych.

Należy postępować zgodnie z informacjami przedstawionymi w części **PROCEDURY**. Wydajność krążków zależy nie tylko od stężeń użytych antybiotyków, ale również stosowania właściwego inokulum i hodowli kontrolnych, podłoży testowanych jakościowo oraz właściwej temperatury przechowywania i innych czynników.

Podczas wykonywania wszystkich procedur należy przestrzegać aseptycznej techniki pracy i obowiązujących środków ostrożności dotyczących zagrożenia mikrobiologicznego.

Procedury aseptycznej techniki pracy z produktem, zagrożenia biologiczne oraz usuwanie zużytego produktu opisano w dokumencie **OGÓLNE INSTRUKCJE DOTYCZĄCE STOSOWANIA**.

## WARUNKI I OKRES PRZECHOWYWANIA

1. Po otrzymaniu materiału przechowywać krążki w temperaturze od -20 do +8°C. Jeżeli chłodziarka laboratoryjna jest często otwierana i zamykana, a odpowiednia temperatura nie jest utrzymywana, w chłodzarnie należy przechowywać jedynie zapas wystarczający na jeden tydzień pracy. Zaleca się zamrażanie niektórych krążków (np. zawierających antybiotyki β-laktamowe) do temperatury -20°C.
2. Przed otwarciem należy pozostawić pojemniki do osiągnięcia temperatury pokojowej. Po zakończeniu pracy ponownie umieścić niewykorzystane krążki w chłodzarnie.
3. W pierwszej kolejności stosować najstarsze krążki.
4. Odrzucić krążki, których termin ważności upłynął. Ponadto kasety, z których w ciągu tygodnia często wyjmowano krążki oraz krążki pozostawione w laboratorium przez noc należy odrzucić lub przetestować przed ewentualnym użyciem.
5. Jeżeli po użyciu krążków z zalecanymi drobnoustrojami kontrolnymi powstają nieprawidłowe strefy hamowania, należy skontrolować przebieg całej procedury. Przyczyną nieprawidłowych rozmiarów stref zahamowania mogą być same krążki, technika inokulacji, głębokość przygotowanej pożywki lub inne czynniki.

Termin ważności odnosi się wyłącznie do krążków w nieuszkodzonych pojemnikach, przechowywanych zgodnie z zaleceniami. Krążki pochodzące z otwartych pojemników, przechowywane zgodnie z powyższymi wskazaniem mogą być stosowane, o ile rozmiary stref zahamowania spełniają wymogi dla hodowli kontrolnych.

## KONTROLA JAKOŚCI PRZEZ UŻYTKOWNIKA <sup>6</sup>

Krażki z preparatami przeciwbakteryjnymi należy testować co najmniej dwa razy tygodniowo w celu potwierdzenia prawidłowej wydajności.

W celu oceny prawidłowej wydajności procedury należy stosować szczepy *E. coli* ATCC™ 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *H. influenzae* ATCC 49247, *H. influenzae* ATCC 49766, *N. gonorrhoeae* ATCC 49226, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *E. coli* ATCC 35218 (szczep wytwarzający β-laktamazę) i *E. faecalis* ATCC 29212. W celu oceny niskiej zawartości tyminy i tymidyny w nowych partiach podłoża Mueller Hinton Agar zaleca się stosowanie *E. faecalis* ATCC 29212 (lub 33186).

Informacje na temat przygotowania, inokulacji i inkubacji w badaniach wrażliwości przedstawiono w części **PROCEDURA - Procedura testowa**.

Informacje dotyczące oczekiwanych rozmiarów stref szczepów kontroli jakości przedstawiono w dokumencie NCCLS Standard M2-A8 (M100-S15) oraz we właściwych standardach krajowych.

## PROCEDURA

### Dostarczane materiały

Krażki **Sensi-Disc**, zgodnie z opisem na etykietach

### Materiały wymagane, ale niedostarczane

Dodatkowe podłoża hodowlane, odczynniki, szczepy do kontroli jakości oraz wyposażenie laboratoryjne niezbędne do przeprowadzenia testów wrażliwości metodą dyfuzyjno-krażkową. Przygotować wzorzec do analizy zmętnienia 0,5 McFarland dodając 0,5 ml roztworu  $\text{BaCl}_2$  o stężeniu 0,048 M [1,175% (stężenie wagowo-objętościowe) r-r  $\text{BaCl}_2 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ ] do 99,5 ml roztworu  $\text{H}_2\text{SO}_4$  o stężeniu 0,18 M (0,36N) [1% (stężenie objętościowo-objętościowe)]. Zweryfikować przy użyciu spektrofotometru o długości drogi optycznej równej 1 cm z odpowiednim uchwytem na kuwety; absorbancja przy długości fali 625 nm powinna zawierać się w przedziale 0,08–0,1.

### Typy próbek

Podczas opisywanego testu nie należy stosować standardowej badania próbek. Należy stosować czyste hodowle. Informacje, w tym dotyczące przygotowania inokulum przedstawiono w części **PROCEDURA - Procedura testowa**. Jeżeli to możliwe, hodowle należy namnażać z próbek uzyskanych od pacjentów przed rozpoczęciem antybiotykoterapii.

### Procedura testowa

#### 1. Przygotowanie inokulum z hodowlą badaną i kontrolną

Wykonać barwienie metodą Grama. Stosować wyłącznie czyste kultury.

b. Wybrać 3–5 podobnych kolonii i przenieść z igłą do inokulacji lub eżą do 4–5 ml odpowiedniej pożywki, np. **Trypticase**<sup>TM</sup> Soy Broth (lub Mueller Hinton Broth w przypadku organizmów o wysokich wymaganiach odżywczych).

c. Metoda bezpośredniego rozprowadzania kolonii: przygotować bezpośrednią zawiesinę pożywki lub soli fizjologicznej wybranych kolonii inkubowanych przez noc na płytce agarowej. Należy stosować niewybiórczą pożywkę, np. podłoże krwawe lub podłoże czekoladowe w przypadku hodowli *H. influenzae* i *N. gonorrhoeae*.

d. W razie potrzeby rozcieńczyć próbkę tak, by otrzymać zmętnienie równoważne wzorcowi zmętnienia 0,5 McFarland. W charakterze rozpuszczalnika stosować jałową pożywkę lub jałową sól fizjologiczną. Alternatywnie można również zastosować standaryzowane fotometryczne inokulum. W celu dostosowania warunków inokulum dla szybko rosnących drobnoustrojów można zastosować wolumetryczny aparat do przygotowania inokulum – **Prompt Inoculation System**. Nie zaleca się stosowania hodowli w pożywce prowadzonej przez noc w charakterze inokulum.

#### 2. Inokulacja

a. W ciągu 15 min należy zanurzyć sterylny wacik w odpowiednio przygotowanym inokulum i kilkakrotnie go obrócić, mocno przyciskając do górnej wewnętrznej ścianki probówki, tak by odsączyć nadmiar płynu.

b. Wykonać posiew, trzykrotnie rozprowadzając materiał po całej powierzchni podłoża Mueller Hinton Agar (lub innego odpowiedniego podłoża agarowego) na płytce, obracając płytkę za każdym razem o 60°, aby uzyskać równomierny posiew.

c. Pokrywka może zostać uniesiona na 3–5 min, lecz nie dłużej niż 15 min, w celu zaabsorbowania wilgoci na powierzchni podłoża przed nałożeniem krażków nasyconych lekami.

#### 3. Wybrać odpowiednie krażki (np. zalecane w materiale referencyjnym 7. i tabelach 1 i 1A M100-S13 [M2]).

#### 4. Nałożyć krażki za pomocą aplikatora **BBL Sensi-Disc**, zachowując zasady aseptyki. Krażki należy rozmieścić w taki sposób, aby ich centralne części znajdowały się w odległości co najmniej

24 mm od siebie. Krążki z penicyliną najlepiej umieścić w takich miejscach, aby znajdowały się co najmniej 10 mm od brzegu szalki Petriego, a ich środkowe części znajdowały się w odległości co najmniej 30 cm od siebie. Unikać umieszczania krążków bezpośrednio jeden przy drugim. W przypadku hodowli *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* i *S. pneumoniae* nie należy stosować więcej niż dziewięciu krążków na płytce o średnicy 150 mm lub czterech krążków na płytce o średnicy 90 mm. Po umieszczeniu krążków na agarze za pomocą aplikatora innego niż Self-Tamping er należy je lekko docisnąć za pomocą sterylnej igły lub pincety, aby dokładnie przylegały one do powierzchni podłoża.

5. Przed upływem 15 min umieścić w inkubatorze płytki agarowe skierowane agarem ku górze. Szczepy *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* i innych paciorkowców należy inkubować w środowisku beztlenowym wzbogaconym 5% CO<sub>2</sub>.

6. Odczytać wynik na płytkach po 16–18 godz. inkubacji (20–24 godz. w przypadku *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* i innych paciorkowców). W celu wykrycia szczepów rodzaju *Staphylococcus* opornych na metycylinę/naftycylinę/oksacylinę oraz rodzaju *Enterococcus* opornych na wankomycynę zaleca się prowadzenie inkubacji przez pełne 24 godz. Pomiar średnic stref całkowitego zahamowania wzrostu prowadzi się na podstawie obserwacji. Rozmiar stref mierzy się z dokładnością do najbliższego milimetra. Szczegółowe informacje dotyczące pomiarów stref zahamowania przedstawiono w piśmiennictwie.<sup>6</sup> Wystąpienie jedynie izolowanych kolonii oznacza, że inokulum było zbyt rozcieńczone. Należy wówczas powtórzyć test. Nie można prowadzić porównania aktywności leków na podstawie porównania stref wokół krążków nasączonych różnymi lekami.

## Wyniki<sup>6,7</sup>

Zalecane kryteria interpretacji oparto na zwykłych schematach dawkowania i drogi podawania leków w USA. Jeżeli te standardy nie mogą być stosowane, należy się odwołać do standardów lokalnych.

Odczytać średnice stref i porównać z wartościami podanymi w dokumencie NCCLS Standard M2-A8 (M100-S15) lub w standardach obowiązujących w danym kraju; wyniki dla określonego organizmu można przekazywać w kategoriach Oporne, Wynik pośredni lub Wrażliwe. W przypadku niektórych połączeń drobnoustrojów i antybiotyków brak opornych szczepów nie pozwala definiowanie wyniku innego niż „Wrażliwe”. W przypadku szczepów dających wyniki wskazujące na kategorię „niewrażliwe”, należy potwierdzić test identyfikacji drobnoustroju i wrażliwości na lek przeciwbakteryjny. W razie konieczności najkorzystniejszą metodą testu jest metoda rozcieńczeniowa; w takim przypadku może być konieczne przekazanie drobnoustrojów do laboratorium referencyjnego.<sup>7</sup>

Wrażliwość szczepów *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych od pacjentów z mukowiscydozą można w miarodajny sposób określać metodą krążków, jednak przed przekazaniem informacji o wrażliwości może być konieczna inkubacja przez okres do 24 godz.

Z uwagi na wytwarzanie białek wiążących penicylinę (PBP) o niskim powinowactwie lub wytwarzanie β-laktamazy enterokoki mogą wykazywać oporność na penicylinę i ampicylinę. Płytkowy test dyfuzyjno-krążkowy pozwala na wykrywanie ze znaczną dokładnością izolowanych szczepów wytwarzających zmienione PBP, jednak nie pozwala na skuteczne wykrywanie szczepów wytwarzających β-laktamazę. Szczepy wytwarzające β-laktamazę należy wykrywać stosując test β-laktamazowy<sup>6</sup>, np. przy użyciu krążków **Cefinase™** z nitrocefina lub chromogennych krążków cefalosporynowych.

W przypadku szczepów z rodzaju *Enterococcus*, cefalosporyny, aminoglikozydy (z wyjątkiem badań przesiewowych w kierunku silnej oporności), klindamycyna i trimetoprim/sulfametoksazol mogą wykazywać aktywność w warunkach *in vitro*, aczkolwiek nie są skuteczne w warunkach klinicznych; w takiej sytuacji nie należy zgłaszać, że izolowane szczepy wykazują wrażliwość na antybiotyki.

Mianem beta-laktamaz o poszerzonym spektrum (ESBL) określa się enzymy wytwarzane przez laseczki Gram-ujemne, wytwarzane na skutek mutacji genów kodujących wektory plazmidowe zwykłych β-laktamaz. Niektóre szczepy należące do rodzaju *Klebsiella* spp. i *E. coli* wytwarzające

ESBL mogą być odporne na penicyliny, cefalosporyny lub aztreonam w warunkach klinicznych, mimo widocznej aktywności w warunkach *in vitro*. Niektóre z takich szczepów wykazują strefy hamowania poniżej wartości charakteryzujących populację wrażliwą, a powyżej standardowych wartości granicznych dla niektórych cefalosporyn o rozszerzonym spektrum przeciwbakteryjnym lub aztreonamu. W przypadku wystąpienia takich szczepów, przed podaniem wyników dla penicylin, cefalosporyn o rozszerzonym spektrum lub aztreonamu należy przeprowadzić badanie przesiewowe, stosując wartości graniczne dla bakterii wytwarzających ESBL. Przy zastosowaniu standardowych wartości granicznych dla tych preparatów, inne szczepy mogą dawać wyniki pośrednie lub wykazywać oporność. W przypadku wszystkich szczepów z ESBL średnice stref dla co najmniej jednej cefalosporyny o rozszerzonym spektrum lub aztreonamu powinny być większe w obecności kwasu klawulonowego. Wynik należy potwierdzić przy użyciu fenotypowania. W przypadku wszystkich szczepów dla których potwierdzono wytwarzanie ESBL interpretację wyniku należy przekazywać jako odporne na wszystkie penicyliny, cefalosporyny i aztreonam. Decyzję o wykonaniu testów przesiewowych w próbkach moczu na ESBL należy podjąć indywidualnie, uwzględniając częstość występowania, leczenie i zagrożenia związane z kontrolą zakażeń.<sup>7</sup>

W przypadku rozpoznania gronkowców opornych na metycylinę, prawdopodobieństwo wykrycia oporności za pomocą testu z krążkiem nasyconym oksacyliną jest większe w porównaniu do testu z krążkiem nasyconym nafcyliną. Dlatego w celu wykrywania oporności metycyliny/oksacyliny należy stosować krążki z 1 µg oksacyliny. Jakikolwiek nowe strefy otaczające krążek oksacylinowy należy dokładnie obejrzeć za pomocą przewodzonego światła w przypadku niewielkich kolonii lub kolonii w formie warstewek w obrębie strefy zahamowania po 24 godz. inkubacji. Gronkowce metycylinooporne są często również odporne na wiele rodzajów antybiotyków, w tym na aminoglikozydy, makrolidy, klindamycynę, fenikole, chinolony, sulfonamidy i tetracyklinę. Obserwowana oporność na wiele gatunków powinna stanowić sygnał o możliwej oporności na metycylinę. Niemniej jednak zarówno w populacji pacjentów leczonych szpitalnie, jak i poza szpitalem izolowano szczepy *S. aureus* odporne na metycylinę, niewykazujące oporności na inne rodzaje antybiotyków. Jeżeli wynik testu dyfuzyjno-krążkowego na obecność rodzajów *Staphylococcus* opornych na metycylinę jest niejednoznaczny, należy wykonać dodatkowe testy potwierdzające, zgodnie z zaleceniami w dokumencie NCCLS M7<sup>9</sup>. W razie obecności *S. aureus* opornych na metycylinę/oksacylinę (MRSA) oraz gronkowców koagulazoujemnych należy zgłaszać oporność (lub nie zgłaszać wyniku testu dla tych leków) na wszystkie penicyliny, cefemy, karbapenemy i innych β-laktamów, np. amoksycyliny i kwasu klawulonowego, ampicyliny i sulbaktamu, tikarcyliny i kwasu klawulonowego, piperacyliny i tazobaktamu oraz imipenemu, bez względu na wyniki badania *in vitro* dla tych leków. Uzasadnieniem tego zalecenia jest fakt, że w większości przypadków udokumentowanych zakażeń wywołanych przez gronkowce metycylinooporne stwierdzono niezadowalającą odpowiedź na leczenie za pomocą β-laktamów. Konieczne jest opublikowanie przekonujących wyników badań klinicznych dokumentujących skuteczność kliniczną tych środków.<sup>6</sup> Izolowane szczepy gronkowców z obecnością genu *mecA* lub produktu tego genu – PBP 2a – należy zgłaszać jako odporne na oksacylinę. Kryteria interpretacji dla gronkowców koagulazoujemnych wykazują korelację z obecnością lub brakiem genu kodującego oporność na metycylinę (*mecA*) w *S. epidermidis*. Wymienione kryteria interpretacji mogą narzucać kryterium oporności na inne gronkowce koagulazoujemne, np. *S. lugdunensis* or *S. saprophyticus*. W przypadku poważnych zakażeń wywołanych przez gronkowce koagulazoujemne inne niż *S. epidermidis*, wskazane może być badanie obecności genu *mecA* lub ekspresji białkowego produktu tego genu – białka wiążącego penicylinę 2a (PBP 2a, określaną niekiedy jako PBP 2), może się okazać właściwe, szczególnie w przypadku szczepów, dla których średnica stref zahamowania mieści się w przedziale określającym wyniki od pośredniego do oporności. Izolowane szczepy bez obecności genu *mecA* lub produktu tego genu – PBP 2a – należy zgłaszać jako wrażliwe na oksacylinę. Opisywano zastrzeżenia do dokładności metody oznaczania wrażliwości metycyliny (oksacyliny) gronkowców koagulazoujemnych (np. *S. saprophyticus*) metodą krążkową.<sup>10</sup> Nie zaleca się prowadzenia rutynowych badań szczepów *S. saprophyticus* izolowanych z próbek moczu z uwagi

na wartości stężeń w moczu leków przeciwbakteryjnych powszechnie stosowanych w terapii ostrych, niepowikłanych zakażeń układu moczowego (np. nitrofurantoiny, triemetoprimu/sulfametoksazolu lub fluorochinolonów).

Wynik szybkiego testu  $\beta$ -laktamazowego, prowadzonego np. za pomocą krążków **Cefinase**, może dostarczyć istotnych klinicznie informacji przed uzyskaniem wyniku testu prowadzonego metodą dyfuzyjno-krążkową dla *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae* i *Moraxella catarrhalis*; ten test jest jedyną miarodajną metodą wykrywania gatunków w rodzaju *Enterococcus* wytwarzających  $\beta$ -laktamazę. Dodatni wynik testu na  $\beta$ -laktamazę pozwala przewidywać oporność na penicylinę, ampicylinę i amoksycylinę w przypadku *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae* i *M. catarrhalis* oraz oporność na penicyliny, w tym acyloamino-, karboksy- oraz ureidopenicyliny dla gronkowców i enterokoków. Ujemny wynik testu na  $\beta$ -laktamazę nie wyklucza innych mechanizmów oporności. Nie należy badać szczepów z rodzajów *Enterobacteriaceae* i *Pseudomonas* oraz innych tlenowych laseczek Gram-ujemnych, ponieważ wyniki mogą być niezgodne z wrażliwością  $\beta$ -laktamów stosowanych najczęściej w antybiotykoterapii. Dokładne wykrywanie gronkowców wytwarzających  $\beta$ -laktamazę może wymagać indukcji enzymu i inkubacji w teście z nitrocefina przez czas do 1 godz. Indukcję można łatwo przeprowadzić badając strefę wzrostu od obwódki strefy otaczającej krążek oksacylinowy. W czasie badania izolowanych szczepów o bardzo dużym znaczeniu należy dołożyć wszelkich starań, by uzyskać dokładne wyniki, w tym wykonać testowanie znanych szczepów kontroli dodatniej i ujemnej

Badanie wrażliwości penicylin i innych antybiotyków  $\beta$ -laktamowych zaakceptowanych przez FDA do leczenia zakażeń wywołanych przez paciorkowce grupy A i B nie jest konieczne dla celów klinicznych i nie powinno być rutynowo wykonywane ponieważ, podobnie jak w przypadku wankomycyny, nie opisywano szczepów opornych. Niemniej jednak w przypadku niektórych szczepów *S. agalactiae* mogą wystąpić pośrednie wyniki badania wrażliwości na penicylinę.

Wyniki testów dyfuzyjno-krążkowych wrażliwości *Neisseria meningitidis* z ampicyliną, penicyliną oraz ryfampicyną są niemiarodajne. W przypadku tych drobnoustrojów należy wykonywać testy minimalnego stężenia hamującego (MIC).<sup>7</sup>

## CHARAKTERYSTYKA WYNIKÓW I OGRANICZENIA DOTYCZĄCE PROCEDURY

Opisywany test jest przeznaczony przede wszystkim do badania szybko rosnących patogenów tlenowych. Bakterie o wysokich wymaganiach odżywczych inne niż *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* i inne paciorkowce powinny być testowane za pomocą metody rozcieńczeniowej.<sup>9</sup> Badanie beztlenowców wymaga zastosowania specjalnych procedur.<sup>11</sup>

Dane dotyczące miarodajności testu dyfuzyjnego na płycie agarowej dla szczepów z rodzaju *Campylobacter*, *Corynebacterium* i *Bacillus* nie są miarodajne.

Kategorie Oporne, Wynik pośredni i Wrażliwe różnią się tylko o jeden milimetr, zawierając się w granicach normalnego błędu laboratoryjnego. W przypadku niektórych hodowli może występować strefa graniczna o rozmiarach zmiennych z dnia na dzień lub w zależności od laboratorium. Jest to jednak rzadkie zjawisko.

W celu wykrywania oporności dwoinek zapalenia płuc i enterokoków należy ściśle stosować metody zalecane przez NCCLS.<sup>6</sup>

Aktualnie w użyciu mogą znajdować się inne niż wymieniono leki przeciwbakteryjne. Testy wrażliwości w których zastosowano te leki powinny być interpretowane z uwzględnieniem obecności lub braku wyraźnej strefy inhibicji, a do czasu wytworzenia stref ich wynik należy uznawać wyłącznie za jakościowy. Należy zapisać średnice wszystkich stref.

Testy potwierdzające ESBL są ważne wyłącznie jeśli cztery krążki, zawierające cefotaksym, cefotaksym z kwasem klawulonowym, ceftazydym i ceftazydym z kwasem klawulonowym są stosowane jednocześnie. NCCLS nie zaleca indywidualnego stosowania tych krążków.<sup>6,7</sup>

Metoda inokulacji, interpretacja oraz granice rozmiarów stref przedstawione w standardach NCCLS mogą się różnić od standardów krajowych.<sup>6, 12</sup>

**Sensi-Disc Vancomycin (254858) -UWAGA:** Nie jest znana zdolność tego produktu do wykrywania odpornych na wankomycynę szczepów gronkowca złocistego (*Staphylococcus aureus*) (VRSA). Ośrodki Kontroli i Zapobiegania Chorobom (CDC, Centers for Disease Control and Prevention) zalecają stosowanie dodatkowych metod testowych w przypadku przeprowadzania badań wrażliwości na *S. aureus*, a szczególnie na szczepy *S. aureus* odporne na metycylinę (MRSA). Badania te obejmują nieautomatyzowane metody MIC (np. mikrorozcieńczenie w pożywce płynnej lub rozcieńczenie na agarze) oraz agarowy test przesiewowy z wankomycyną (na podłożu Brain Heart Infusion Agar z wankomycyną 6 µg/mL). Wykrycie szczepów gronkowca odpornych na wankomycynę (VRSA) za pomocą tych metod wymaga 24 godzin inkubacji.

Dodatkowe informacje można znaleźć w witrynie internetowej ośrodków CDC.

## PIŚMIENNICTWO

1. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* 45:493-496.
2. Ryan, K.J., F.D. Schoenknecht, and W.M.M. Kirby. 1970. Disc sensitivity testing. *Hospital Practice* 5:91-100.
3. Federal Register. 1972. Rules and regulations. Antibiotic susceptibility discs. *Fed. Regist.* 37:20525-20529. Erratum, 38:2756, 1973.
4. Ericsson, H.M., and J.C. Sherris. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. *Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B. Suppl.* 217:1-90.
5. World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1977. Technical report series 610. W.H.O., Geneva.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Approved standard M2-A8. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests, 8th ed. NCCLS, Wayne, Pa.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). 2005. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; Fifteenth Informational Supplement, M100- S15., Wayne, PA.
8. Baker, C.N., C. Thornsberry, and R.W. Hawkinson. 1983. Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility testing: evaluation of overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. *J. Clin. Microbiol.* 17:450-457.
9. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2003. Approved standard M7-A6. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 6th ed. NCCLS, Wayne, Pa.
10. York, M.K., L. Gibbs, F. Chehab, and G.F. Brooks. 1996. Comparison of PCR detection of *mecA* with standard susceptibility testing methods to determine methicillin resistance in coagulase-negative staphylococci. *J. Clin. Microbiol.* 34: 249-253.
11. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2001. Approved standard M11-A5. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 5th ed. NCCLS, Wayne, Pa.
12. Jorgensen, J.H., and J.D. Turnidge. 2003. Susceptibility test methods: dilution and disk diffusion methods. *In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.*
13. Bannerman, T.L. 2003. *Staphylococcus, Micrococcus, and other catalase-positive cocci that grow aerobically.* *In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8<sup>th</sup> ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.*
14. Kilian, M. 2003. *Haemophilus.* *In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.*
15. Mannheim, W. et al.: *Pasteurellaceae.* *In: Mikrobiologische Diagnostik (ed. F. Burkhardt). Thieme Verlag, Stuttgart 1992.*
16. Chapin, K., and G.V. Doern. 1983. Selective media for recovery of *Haemophilus influenzae* from species contaminated with upper respiratory tract microbial flora. *J. Clin. Microbiol.* 17:1163-1165.
17. Wilkins, T.D., and T. Thiel. 1973. Modified broth-disk method for testing the antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria. *Antimicrob. Agents Chemother.* 3: 350-356.
18. Zabransky, R.J., et al. 1986. Predicting the susceptibility of anaerobes to cefoperazone, cefotaxime, and ceftiofur with the thioglycollate broth-disk procedure. *J. Clin. Microbiol.* 24: 181-185.

## **PAKOWANIE / DOSTĘPNOŚĆ**

### **BD Sensi-discs**

Pakowane w szklanych probówkach z zatyczkami zawierającymi środek osuszający; w każdej probówce znajduje się 1 kasetka. Opakowanie jednostkowe: 10 probówek.  
Dostępność numerów katalogowych i produktów przedstawiono w tabeli 1.

## **DODATKOWE INFORMACJE**

W celu uzyskania dodatkowych informacji należy się skontaktować z lokalnym przedstawicielem firmy BD.



BD Diagnostic Systems  
Tullastrasse 8 – 12  
D-69126 Heidelberg/Germany  
Phone: +49-62 21-30 50, Fax: +49-62 21-30 52 16  
Reception\_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe  
Becton Dickinson France SA  
11 rue Aristide Bergès  
38800 Le Pont de Claix/France  
Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo, BBL, Cefinase, IsoVitaleX , Sensi-Disc, Trypticase and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

Prompt is a trademark of 3M.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection

© 2005 Becton, Dickinson and Company



Tabela 1: Produkty **BD Sensi-Disc** dostępne w szklanych probówkach

Numer	Opis
254744	AMIKACIN AN-10
254703	AMIKACIN AN-30
254741	AMOXICILLIN AMX-25
254718	AMOXYCILLIN + CLAVULANIC ACID AMC-30
254727	AMPICILLIN AM-10
254739	AMPICILLIN AM-25
254873	AZITHROMYCIN AZM 15
254749	AZLOCILLIN AZ-30
254750	BACITRACIN B-10 *
254755	CEFACLOR CEC-30
254758	CEFADROXYL CFR-30
254734	CEFAZOLIN CZ-30
254893	CEFEPIM FEP-30
254715	CEFOPERAZON CFP-30
254713	CEFOTAXIM CTX-30
254762	CEFOTIAM CFT-30
254711	CEFOXITIN FOX-30
254760	CEFSULODIN CFS-30
254878	CEFTAZIDIM CAZ-30
254722	CEFTRIAxon CRO-30
254775	CEFUROXIM CXM-30
254732	CEPHALEXIN CN-30
254704	CEPHALOTHIN CF-30
254725	CHLORAMPHENICOL C-30
254724	CIPROFLOXACIN CIP-5
254733	CLINDAMYCIN CC-10
254752	CLINDAMYCIN CC-2
254766	COLISTIN CL-10
254780	DOXYCYCLIN D-30
254731	ERYTHROMYCIN E-15
254786	Fosfomycin + Glucose-6-Phosphat FF-120
254788	Fosfomycin + Glucose-6-Phosphat FF-502
254785	FUSIDIC ACID FA-10
254726	GENTAMICIN GM-10
254797	IMIPENEM IPM-10
254799	KANAMYCIN K-30
254707	LINCOMYCIN L-15
254882	MEROPENEM MEM-10
254802	METRONIDAZOL MET-80**
254807	MEZLOCILLIN MZ-30
254730	NALIDIXIC ACID NA-30
254808	NEOMYCIN N-30
254710	NETILMYCIN NET-30
254702	NITROFURANTOIN FM-300

Numer	Opis
254855	NITROFURANTOIN + SULFADIAZIN U
254719	NORFLOXACIN NOR-10
254881	NOVOBIOCIN NB-5 *
254720	OFLOXACIN OFX-10
254819	OFLOXACIN OFX-5
254821	OLEANDOMYCIN OL-15 *
254822	OXACILLIN OX-1
254823	OXACILLIN OX-5
254824	PENICILLIN G P-0.8
254708	PENICILLIN G P-10
254700	PIPEMIDIC ACID PI-20
254712	PIPERACILLIN PIP-100
254832	PIPERACILLIN PIP-30
254828	POLYMYXIN B PB-300*
254709	SULFAMETHOXAZOL SMZ
254729	SULFAMETHOXAZOL + TRIMETHOPRIM SXT
254728	TETRACYCLIN TE-30
254815	TOBRAMYCIN NN-10
254816	TOBRAMYCIN NN-30
254714	TRIMETHOPRIM TMP-5
254844	TRIPLE SULFA SSS-0.25
254858	VANCOMYCIN VA-30



**Przypisy do tabeli 1:**

\*Te krążki Sensi-Discs są stosowane w różnorodnych procedurach izolowania i identyfikacji. Nie są używane do testowania wrażliwości szczepów izolowanych w celach terapeutycznych.

**254750 BACITRACIN B-10 and**

**254821 OLEANDOMYCIN OL-15:**

Te krążki są stosowane do izolacji szczepów *Haemophilus influenzae* na podłożach niewybiórczych. Po inokulacji płytki z podłożem izolacyjnym, np. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)** lub **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)**, krążek z bacytracyną lub oleandomycyną należy umieścić w obszarze pierwszego posiewu. Po zakończeniu inkubacji szczepy *Haemophilus influenzae* mogą być izolowane ze strefy zahamowania, ponieważ są odporne na bacytracynę i oleandomycynę – antybiotyki hamujące wzrost większości organizmów należących do prawidłowej flory.<sup>13-15</sup>

**254881 NOVOBIOCIN NB-5**

Ten krążek jest stosowany w celu różnicowania gronkowców na gatunki wrażliwe i odporne na nowobiocynę: Wykonać test dyfuzyjny na płytce agarowej Mueller Hinton II Agar i inkubować przez 18–24 godz. Oporne: <16 mm; wrażliwe: ≥16 mm. *Staphylococcus saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* i szereg innych gatunków wykazuje oporność, natomiast *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. schleiferi* i liczne inne gatunki są wrażliwe.<sup>16</sup>

**254828 POLYMYXIN B PB-300**

Ten krążek jest stosowany w celu różnicowania gronkowców na gatunki wrażliwe i odporne na polimyksynę (metoda analogiczna do nowobiocyny): Oporne <10 mm; wrażliwe ≥ 10 mm. Gatunki odporne: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hyicus* i *S. chromogenes*.<sup>16</sup> Ten krążek jest również stosowany w szeregu innych procedur identyfikacyjnych.

**254802 METRONIDAZOL MET-80**

\*\*Ten krążek stosowano do badań przesiewowych izolowanych szczepów beztlenowców obligatoryjnych (np. rodzaju *Bacteroides*) w kierunku oporności na metronidazol za pomocą metody seryjnych rozcieńczeń.<sup>17,18</sup> Należy zauważyć, że ta metoda nie jest już zalecana przez NCCLS.<sup>11</sup> Ponadto metody dyfuzyjno-krążkowej nie stosuje się do testowania beztlenowców obligatoryjnych.