

## BD Sensi-Disc™ Susceptibility Test Discs

### POUŽITIE

Disky na testovanie citlivosti Sensi-Disc sa používajú na semikvantitatívne in vitro testovanie citlivosti testovacím postupom s agarovou diskovou difúziou pri bežných rýchlo rastúcich a niektorých náročných bakteriálnych patogénoch. Patria medzi ne čelad' *Enterobacteriaceae*, rody *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Enterococcus*, druh *Vibrio cholerae* a pri modifikovanom postupe aj druhy *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* a ďalšie streptokoky.

Disky na testovanie citlivosti Sensi-Disc napustené bacitracínom, oleandomycínom, novobiocínom a polymyxínom B sa nepoužívajú na určovanie citlivosti alebo rezistencie izolátov na liečebné účely, ale na izoláciu a diferenciaciu bakteriálnych izolátov. Disky Sensi-Disc napustené metronidazolom sa používajú za účelom preverovania (skrínungu) izolátov striktných anaeróbov na citlivosť na metronidazol metódou riedenia disku živným bujónom. Pozrite si poznámky pod Tabuľkou 1.

### PRINCÍPY A VYSVETLENIE POSTUPU

Metódy agarovej difúzie s využitím suchých diskov z filtračného papiera napustených špecifickými koncentráciami antibiotík boli vyvinuté v 40-tych rokoch minulého storočia. Za účelom eliminovať alebo minimalizovať variabilitu pri tomto testovaní vyvinuli Bauer a kol. štandardizovaný postup, pre ktorý bol ako testovacia pôda vybraný Mueller Hinton Agar.<sup>1,2</sup>

Disky s obsahom širokého spektra antibiotík sa aplikujú na povrch pôdy Mueller Hinton Agar (alebo testovacích pôd *Haemophilus Test Medium Agar* na druh *H. influenzae*, *GC II Agar with IsoVitaleX™* na druh *N. gonorrhoeae* alebo *Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood* na druhy *S. pneumoniae*,  $\beta$ -hemolytické a streptokoky viridantnej skupiny), ktorá bola naočkovaná čistými kultúrami klinických izolátov. Po inkubácii sa misky odčítajú, odmerajú sa inhibičné zóny okolo diskov a porovnávajú so stanovenými veľkosťami zón pre každé antibiotikum, aby sa určila najvhodnejšia látka (látky) na použitie pri liečbe antibiotikami.

Rozličné regulačné úrady a štandardizačné orgány uverejnili štandardizované referenčné postupy založené na metóde Bauer-Kirby. Medzi najstaršie a najviac akceptované štandardizované postupy patria tie, ktoré uverejnil americký úrad Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup> a Svetová zdravotnícka organizácia (WHO).<sup>4,5</sup> Tento postup prijala ako normu konsenzu americká Národná komisia pre klinické laboratórne normy (NCCLS) a pravidelne ho aktualizuje.<sup>6,7</sup> V najnovších dokumentoch komisie NCCLS nájdete aktuálne odporúčania.

### ZLOŽENIE

Disky značky **Sensi-Disc** sú 6-milimetrové disky pripravené napustením vysokokvalitného absorpčného papiera presne určeným množstvom antibiotík a ďalších chemoterapeutík. Disky sú zreteľne označené na oboch stranách písmenami a číslami vyjadrujúcimi príslušnú látku a obsah liečiva. (Pozri tabuľku s koncentráciami reaktívnych zložiek.) Obsah liečiv na diskoch bol určený metódami podľa úradu FDA alebo metódami podobnými resp. porovnateľnými s metódami, ktoré boli uverejnené vo federálnom registri Spojených štátov (United States Federal Register).<sup>3</sup>

Disky Sensi-Disc sú dodávané v kazetách po 50 diskoch. Posledný disk v každej kazete je označený „X“ a obsahuje kód liečiva. Kazety sa používajú s dispenzérmi **BBL™ Sensi-Disc**, ktoré obsahujú dispenzér pre jeden disk, 8-miestny dispenzér na 90 mm Petriho misky, dispenzéry so

samočinným pritlačením 6 a 8-miestny na 90 mm Petriho misky a 12-miestny na 150 mm Petriho misky.

## UPOZORNENIA

**IVD** . Iba na profesionálne použitie.

Dodržiavajte časť **POSTUP**, účinnosť disku nezávisí len od jeho sily, ale aj od použitia správnych očkovacích a kontrolných kultúr, funkčnej otestovanej pôdy, správnej skladovacej teploty a ďalších faktorov.

Dodržiavajte aseptické techniky a schválené preventívne opatrenia proti mikrobiologickému riziku. Ďalšie informácie o postupoch pri práci s aseptikami, o biohazardoch a likvidácii použitého produktu nájdete v dokumente **VŠEOBECNÉ POKYNY NA POUŽÍVANIE**.

## USKLADNENIE A ŽIVOTNOSŤ

1. Prijaté disky uskladňujte pri teplote -20 - +8 °C. Ak sa laboratórna chladnička príliš často otvára a zatvára a nie je možné udržať vhodnú teplotu, dajte do chladničky iba zásobu diskov na jeden týždeň. Niektoré disky (napr. β-laktamové) by sa radšej mali uskladňovať v mrazničke pri teplote -20 °C.

2. Pred otvorením nechajte kazety postáť, aby sa zohriali na izbovú teplotu. Po skončení aplikácie diskov vráťte nepoužité disky do mrazničky.

3. Najskôr používajte najstaršie disky.

4. Disky po uplynutí dátumu expirácie vyhodte. Aj kazety, z ktorých sa disky počas týždňa často vyberali, a disky, ktoré boli vybraté v laboratóriu cez noc, by sa mali vyhodiť. Prípadne by sa mala otestovať účinnosť týchto diskov pred ďalším použitím.

5. Ak disky s odporúčanými kontrolnými organizmami sformujú nesprávne zóny, celý postup treba skontrolovať. Chybná veľkosť zóny môže byť zapríčinená diskom, očkovaním, prípravou a výškou pôdy a ďalšími faktormi.

Dátum expirácie sa vzťahuje iba na disky v neotvorených kazetách, uskladnené podľa návodu.

Disky z otvorených kaziet uskladňované podľa vyššie uvedených inštrukcií sa môžu používať, pokiaľ príslušné kontrolné kmene vytvárajú správne veľkosti zón.

## KONTROLA KVALITY <sup>6</sup>

Antibiotické disky by sa mali najmenej dvakrát do týždňa testovať na správnu účinnosť.

Na testovanie správnej účinnosti celého postupu sa musia použiť druhy *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 (kmeň produkujúci β-laktamázu), *E. faecalis* ATCC 29212. *E. faecalis* ATCC 29212 (alebo 33186) sa tiež odporúča na ohodnotenie nových šarží pôdy Mueller Hinton Agar vzhľadom na obsah thymínu a tymidínu.

Ďalšie informácie o príprave, očkovaní, inkubácii a odčítaní nájdete v časti **POSTUP - Postup testu**.

Predpokladané veľkosti zón kontrolných kmeňov nájdete v norme NCCLS Standard M2-A8 (M100-S15) alebo národných normách.<sup>6,7</sup>

## POSTUP

### Dodávaný materiál

**Sensi-Disc** - disky na testovanie citlivosti podľa označenia.

### Potrebný materiál, nedodávaný

Pomocná kultivačná pôda, činidlá, kontrolné organizmy a laboratórne vybavenie potrebné na testovanie citlivosti diskovou difúziou využitím štandardného postupu.

Pripravte mieru zákalu 0,5 McFarlanda pridaním 0,5 ml roztoku 0,048 M BaCl<sub>2</sub> [1,175 % (wt/vol) BaCl<sub>2</sub> x 2 H<sub>2</sub>O] k 99,5 ml roztoku 0,18 M [0,36N] H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [1 % (vol/vol)]. Overte pomocou

spektrofotometra s 1 cm pásom svetla a príslušnou kyvetou; absorbanca pri 625 nm by mala byť 0,08 - 0,10.

### Typy vzoriek

Bežne by sa pri tomto teste nemali používať vzorky. Namiesto nich by sa mali používať čisté kultúry. Pozri časť **POSTUP - Postup testu**, ktorá obsahuje prípravu očkovacej kultúry. Ak je to možné, kultúry by sa mali získať zo vzoriek odoberatých pacientom ešte pred začatím liečby antibiotikami.

### Postup testu

#### 1. Príprava očkovacej kultúry pomocou testovacích a kontrolných kultúr

- Aplikujte Gramovu metódu farbenia. Používajte len čisté kultúry.
- Vyberte 3 až 5 podobných kolónií a preneste ich pomocou očkovacej ihly alebo kľučky do 4 - 5 ml vhodného živného bujónu, napr. sójového bujónu **Trypticase**<sup>™</sup> (alebo bujónu Mueller Hinton pre náročné organizmy).
- Metóda priamej suspenzie kolónií: S fyziologickým roztokom alebo živným bujónom pripravte priamu suspenziu kolónií vybratých z agarovej pôdy inkubovanej cez noc (použite neselektívnu pôdu, napr. krvný agar alebo čokoládový agar pre druhy *H. influenzae* a *N. gonorrhoeae*).
- Podľa potreby zriedte, aby ste dosiahli zákal zodpovedajúci miere zákalu 0,5 McFarlanda. Na zriedenie použite sterilný bujón alebo fyziologický roztok. Prípadne štandardizujte očkovaciu kultúru fotometricky. Na ľahšiu úpravu očkovacej kultúry rýchlo rastúcich organizmov môžete použiť systém **Prompt**<sup>™</sup> **Inoculation System** (volumetrické zariadenie na prípravu očkovacej kultúry).<sup>8</sup> Kultúry z bujónu staré jeden deň by sa nemali používať ako očkovacia kultúra.

#### 2. Očkovanie

- Do 15 minút ponorte sterilný bavlnený tampón do vhodne upravenej očkovacej kultúry a silno ním zakrúžte niekoľkokrát proti hornej vnútornej stene skúmavky, aby sa vytlačila nadbytočná tekutina.
- Celý agarový povrch pôdy Mueller Hinton Agar (alebo iného vhodného agaru) naočkujte trikrát - otočením misky o 60° po každej čiare, aby sa dosiahlo rovnomerné naočkovanie.
- Uzáver môžete nechať pootvorený na 3 až 5 minút, ale najviac 15 minút, aby sa akákoľvek povrchová vlhkosť mohla absorbovať skôr, než použijete disky napustené liečivami.

#### 3. Výber vhodných diskov (podľa odporúčania v použitej literatúre č. 7, tabuľkách 1 a 1A dokumentu M100-SI3 [M2]).

4. **Aplikácia diskov** pomocou dispenzéra **BBL Sensi-Disc**, dodržiavaním preventívnych opatrení pre prácu s aseptikami. Položte disky tak, aby ich stredy boli od seba vzdialené aspoň 24 mm. Odporúča sa položiť disky s penicilínom a cefalosporínom tak, aby boli najviac 10 mm od okraja Petriho misky a ich stredy vzdialené od seba najmenej 30 mm. Tieto disky nedávajte jeden vedľa druhého. Pri druhoch *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* a *S. pneumoniae* použite najviac 9 diskov na jednu Petriho misku s priemerom 150 mm a najviac 4 disky na misku s priemerom 90 mm. Ak boli disky umiestnené na agar pomocou dispenzéra bez funkcie samočinného pritlačenia, pritlačte ich sterilnou ihlou alebo peánom, aby sa zaistil kontakt s povrchom pôdy.

5. Do 15 minút umiestnite misky s agarom dnom hore do inkubátora s teplotou 35 °C. Rody *Haemophilus*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* a ďalšie streptokoky by sa mali inkubovať v aeróbnom prostredí obohatenom 5-percentným CO<sub>2</sub>.

6. Odčítajte misky po 16 - 18 hod. inkubácie (20 - 24 hod. pri rodoch *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* a ďalších streptokokoch). Plných 24 hod. inkubácie sa odporúča pri rode *Staphylococcus* na zistenie stafylokokov rezistentných voči methicilínu/nafticilínu/oxacilínu a pri rode *Enterococcus* na rezistenciu voči vankomycínu. Priemery zón úplnej inhibície sa merajú podľa počiatočného určenia voľným okom. Zóny sa merajú zaokrúhlením na celé milimetre. Ďalšie informácie o meraní inhibičných zón nájdete v použitej literatúre.<sup>6</sup> Ak rastú iba izolované kolónie,

očkovacia kultúra bola príliš slabá a test treba zopakovať. Zóny okolo diskov obsahujúcich odlišné liečivá nie sú porovnateľné za účelom porovnávania pôsobenia liečiv.

## Výsledky<sup>6,7</sup>

Odporúčané kritériá interpretácie sú založené na obvyklých dávkovacích schémach a spôsoboch podávania v USA. Poprípade sa obráťte na miestne normy.

Porovnajte priemery zón s tými, ktoré sú uvedené v norme komisie NCCLS Standard M2-A8 (M100-S15) alebo národných normách. Špecifické organizmy sa môžu pomocou získaných výsledkov označiť ako rezistentné, stredne citlivé alebo citlivé. Pri niektorých kombináciách organizmov/antibiotík absencia rezistentných kmeňov vylučuje vyhodnotenie akejkoľvek kategórie výsledkov inak ako „citlivé“. Pri kmeňoch, ktorých výsledky zdanlivo patria do kategórie „necitlivé“, by sa mali potvrdiť výsledky testov identifikácie organizmu a citlivosti na antibiotiká. Ak je to potrebné, najvhodnejšou testovacou metódou bude metóda riedenia, čo môže vyžadovať zaslanie organizmu do referenčného laboratória.<sup>7</sup>

Citlivosť druhu *Pseudomonas aeruginosa* izolovaného od pacientov s cystickou fibrózou možno spoľahlivo určiť diskovou metódou, pred označením „citlivý“ však bude možno potrebná predĺžená inkubácia až na 24 hod.

Enterokoky môžu byť rezistentné voči penicilínu a ampicilínu z dôvodu produkcie proteínov viažucich penicilín (PBP) s nízkou afinitou alebo vďaka produkcii  $\beta$ -laktamázy. Difúzny diskový test môže presne zistiť izoláty so zmenenými proteínmi PBP, ale spoľahlivo nezistí kmene produkujúce  $\beta$ -laktamázu. Tieto kmene sa najspoľahlivejšie zistia použitím priameho testu na  $\beta$ -laktamázu, napr. s nitrocefínovými diskami **Cefinase™** alebo chromogénnymi cefalosporínovými diskami.

Pri enterokokoch sa môžu cefalosporíny, aminoglykozidy (okrem preverovania vysokej úrovne rezistencie), klindamycín a trimethoprim/sulfamethoxazol zdať aktívne in vitro, ale klinicky nie sú účinné a izoláty by sa teda nemali hodnotiť ako citlivé.

Širokospektrálne  $\beta$ -laktamázy (ESBL) sú enzýmy produkované gramnegatívnymi bacilmi a vznikajú mutáciou génov u bežných nepriamo plazmidových  $\beta$ -laktamáz. Kmene *Klebsiella* a *E. coli*, ktoré produkujú enzýmy ESBL, môžu byť klinicky rezistentné na liečbu penicilínmi, cefalosporínmi alebo aztreonamom napriek zjavnej citlivosti in vitro na niektoré z týchto látok. Niektoré z týchto kmeňov budú mať inhibičné zóny pod normálnom citlivej populácie, ale nad štandardnou hranicou niektorých širokospektrálnych cefalosporínov alebo aztreonamu. Takéto kmene by sa mali preveriť z hľadiska produkcie enzýmov ESBL pomocou overovacích hraničných bodov pre enzýmy ESBL, skôr ako sa vyhodnotia výsledky pre penicilíny, širokospektrálne cefalosporíny alebo aztreonam. Iné kmene sa môžu testovať ako stredne citlivé alebo rezistentné pomocou štandardných hraničných bodov na jednu alebo viacero z týchto látok. Pri všetkých kmeňoch s enzýmami ESBL sa priemery zón jedného alebo viacerých širokospektrálnych cefalosporínov alebo aztreonamu zvýšia za prítomnosti kyseliny klavulánovej podľa fenotypového potvrdzujúceho testovania. Všetky kmene produkujúce enzýmy ESBL by sa v interpretácii testu mali hodnotiť ako rezistentné voči všetkým penicilínom, cefalosporínom a aztreonamu. Rozhodnutie vykonávať preverovacie (skrínigové) testy na ESBL pri všetkých močových izolátoch by sa malo prijať na úrovni inštitúcie, vzhľadom na problémy prevalencie, liečby a kontroly infekcie.<sup>7</sup>

Na rozpoznanie methicilín rezistentných stafylokokov sú spoľahlivejšie oxacilínové disky než methicilínové alebo nafcilínové disky. Preto na testovanie rezistencie voči methicilínu/oxacilínu by sa mal použiť disk s obsahom 1  $\mu$ g oxacilínu. Akákoľvek zóna okolo oxacilínového disku by sa mala dôkladne skontrolovať pomocou preneseného svetla na malé kolónie alebo ľahký „film“ rastu vnútri inhibičnej zóny po úplnej 24-hodinovej inkubácii. Methicilín rezistentné stafylokoky sú často rezistentné voči viacerým druhom antibiotík vrátane aminoglykozidov, makrolidov, klindamycínu, fenikolom, quinolonom, sulfonamidom a tetracyklínu. Pozorovanie viacnásobnej rezistencie by malo byť pomôckou k určeniu novej rezistencie voči methicilínu. Avšak kmene methicilín rezistentného zlatého stafylokoka, ktoré nevykazujú rezistenciu voči iným druhom antibiotík, boli izolované tak z populácie v pacientoch, ako aj mimo pacientov. Ak je výsledok difúzneho diskového testu na možnú rezistenciu rodu *Staphylococcus* voči methicilínu nejednoznačný, urobte dodatočný

potvrdzujúci test podľa dokumentu komisie NCCLS M7.<sup>9</sup> Methicilín/oxacilín rezistentný *S. aureus* (MRSA) a koaguláza negatívne stafylokoky (MRS) by sa mali hodnotiť ako rezistentné (alebo vôbec nehodnotiť) na penicilíny, cefémy, karbapenémy a ďalšie  $\beta$ -laktámy, ako napr. kyselina amoxicilínová/klavulánová, ampicilín/sulbaktam, kyselina tikarcilínová/klavulánová, piperacilín/tazobaktam a imipenem bez ohľadu na výsledky testov in vitro pri týchto látkach. Príčinou sú početné prípady zdokumentovaných infekcií spôsobených methicilín rezistentnými stafylokokmi, kde bola reakcia na liečbu  $\beta$ -laktámom slabá, a je potrebné predložiť presvedčivé klinické údaje, ktoré by dokumentovali klinickú účinnosť týchto látok.<sup>6</sup> Izoláty stafylokokov, ktoré obsahujú gén *mecA* alebo produkujú proteín PBP 2a (produkt génu *mecA*), by sa mali hodnotiť ako oxacilín rezistentné.

Interpretačné kritériá pre koaguláza negatívne stafylokoky korelujú s prítomnosťou alebo absenciou génového kódovania rezistencie voči methicilínu (*mecA*) pri druhu *S. epidermidis*. Tieto interpretačné kritériá môžu „prebiť“ rezistenciu pri iných koaguláza negatívnych stafylokokoch, napr. *S. lugdunensis* alebo *S. saprophyticus*. V prípade vážnych infekcií spôsobených koaguláza negatívnymi stafylokokmi (okrem *S. epidermidis*) môže byť pri kmeňoch s priemerom zóny v rozsahu strednej citlivosti alebo rezistencie vhodné testovanie na gén *mecA* alebo proteín vyjadrený ako *mecA*, proteín viažuci penicilín 2a (PBP 2a, známy aj ako PBP 2). Izoláty, ktoré neobsahujú gén *mecA* alebo neprodukujú proteín PBP 2a, by sa mali hodnotiť ako citlivé na oxacilín.

Zistilo sa, že disková metóda testovania citlivosti nie je presnou metódou na zisťovanie citlivosti na methicilín (oxacilín) pri koaguláza negatívnych stafylokokoch (t. j. *S. saprophyticus*).<sup>10</sup> Rutinné testovanie močových izolátov druhu *S. saprophyticus* sa neodporúča, pretože infekcie reagujú na koncentrácie (v moči) antibiotík bežne používaných na liečbu akútnych nekomplikovaných infekcií močového traktu (napr. nitrofurantoin, trimethoprim/sulfamethoxazol alebo fluoroquinolon).

Pri druhoch *Haemophilus*, *N. gonorrhoeae* a *Moraxella catarrhalis* môže rýchly test  $\beta$ -laktamázy (napr. s diskami **Cefinase**) priniesť klinicky relevantné informácie skôr, ako výsledky testu diskovou difúziou. Je to jediný spoľahlivý test na zistenie druhu *Enterococcus* produkujúceho  $\beta$ -laktamázu. Pozitívny výsledok testu na  $\beta$ -laktamázu predpokladá u druhov *Haemophilus*, *N. gonorrhoeae* a *M. catarrhalis* rezistenciu voči penicilínu, ampicilínu a amoxicilínu a u stafylokokov a enterokokov rezistenciu voči penicilínu vrátane acylamino-, karboxy- a ureidopenicilínov. Negatívny výsledok testu na  $\beta$ -laktamázu rezistenciu nevyklučuje z dôvodu iných mechanizmov. Netestujte členov čeľade *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* a ďalšie aeróbne gramnegatívne bacily, pretože výsledky nemusia predpokladať citlivosť na  $\beta$ -laktámy zväčša používané pri liečbe. Na presné zistenie  $\beta$ -laktamázy u stafylokokov bude potrebná indukcia enzýmov a inkubácia testu založeného na nitrocefíne až 1 hodinu. Indukciu možno ľahko dosiahnuť testovaním rastu od okraja zóny, ktorý obkolesuje oxacilínový testovací disk. Na zabezpečenie presných výsledkov je dôležitá opatnosť vrátane testovania známych pozitívnych a negatívnych kontrolných kmeňov v čase vyšetovania klinických izolátov.<sup>6</sup>

Pri liečbe streptokokov skupiny A a B nie je potrebné testovanie citlivosti na penicilíny a ďalšie  $\beta$ -laktámy na klinické účely, schválené americkým úradom pre potraviny a liečivá (U.S. Food and Drug Administration), a nie je potrebné ho robiť rutinne, pretože (tak ako pri vankomycíne) rezistentné kmene sa nezistili. Avšak niektoré kmene druhu *S. agalactiae* môžu vykázať výsledky strednej citlivosti na penicilín.

Pri druhu *Neisseria meningitidis* sú testy diskovou difúziou na ampicilín, penicilín a rifampin nespoľahlivé. Pri týchto organizmoch by sa mali použiť testy s minimálnou inhibičnou koncentráciou (MIC).<sup>7</sup>

## **VLASTNOSTI A OBMEDZENIA POSTUPU**

Test opísaný v tomto dokumente sa vzťahuje predovšetkým na rýchlo rastúce aeróbne patogény. Náročné baktérie (okrem druhov *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* a ďalších streptokokov) by sa mali testovať metódou zriedovania.<sup>9</sup> Testovanie anaeróbov vyžaduje špeciálne postupy.

Pri druhoch *Campylobacter*, *Corynebacterium* a *Bacillus* nie je dostatok údajov o spoľahlivosti agarového difúzneho testu, takže táto metóda sa neodporúča.

Klasifikácia na rezistentné, stredne citlivé a citlivé organizmy sa líši iba jedným milimetrom, čo je normálna laboratórna chyba. Niektoré kultúry vykazujú hraničnú zónu, ktorá sa líši zo dňa na deň alebo od laboratória k laboratóriu. Takéto kultúry sú relatívne zriedkavé.

Pri zisťovaní rezistencie pneumokokov a enterokokov sa striktne pridržujte metód odporúčaných komisiou NCCLS.<sup>6</sup>

V súčasnosti sa môžu požívať aj antibiotiká iné ako spomínané v normách. Testy citlivosti využívajúce tieto antibiotiká by sa mali interpretovať na základe prítomnosti alebo absencie zóny úplnej inhibície a mali by sa považovať za čisto kvalitatívne, pokiaľ sa nestanovia interpretačné zóny. Všetky priemery zón by sa mali zaznamenávať.

Potvrzovacie testy na enzým ESBL sú platné, len ak sa simultánne použijú všetky štyri disky (cefotaxim, kyselina cefotaximová/klavulánová, ceftazidim, kyselina ceftadizimová/klavulánová). Komisia NCCLS neodporúča individuálne použitie týchto diskov.<sup>6,7</sup>

Metóda očkovania, interpretácia a limity veľkostí zón uvedené v normách komisie NCCLS sa môžu odlišovať od národných noriem.<sup>6, 12</sup>

**POZNÁMKA.** Schopnosť zistiť druh *Staphylococcus aureus* rezistentný voči vankomycínu (VRSA) pomocou tohto produktu nie je známa. Pri testovaní citlivosti izolátov *S. aureus*, najmä pri druhu *S. aureus* rezistentnom voči methicilínu (MRSA), je potrebné použiť dodatočné testovacie metódy odporúčané americkým Centrom na prevenciu a kontrolu chorôb (Centers for Disease Control and Prevention, CDC). Tieto testy zahŕňajú neautomatizované metódy MIC (napr. mikroriedenie v bujóne alebo riedenie v agare) a vankomycínový agarový test (srdcovocievna infúzia s 6 µg/mL vankomycínu). Tieto metódy vyžadujú inkubáciu plných 24 hodín, aby sa zistil druh VRSA.

Dodatočné informácie nájdete na webovej lokalite centra CDC.

## POUŽITÁ LITERATÚRA

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. Tenenbaum (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. Tenenbaum (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th 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. Tenenbaum (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 ceftiofuran with the thioglycollate broth-disk procedure. *J. Clin. Microbiol.* 24: 181-185.

## BALENIE/DOSTUPNOSŤ

### BD Sensi-Discs

Balené v sklených tubách (so zátkou obsahujúcou desikant), 1 kazeta v každej tube. Predajná jednotka: 10 túb

Tabuľka 1 obsahuje informácie o dostupnosti katalógových čísel a produktov.

## ĎALŠIE INFORMÁCIE

Ak máte záujem o ďalšie informácie, kontaktujte miestneho zástupcu 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

Tabuľka 1: **BD Sensi-Disc** - produkty dostupné v sklených valcoch

KAT.	Popis
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

KAT.	Popis
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



### **Poznámky k Tabuľke 1:**

\*Disky Sensi-Discs sa používajú pri mnohých postupoch izolácie a identifikácie. Nepoužívajú sa na testovanie citlivosti izolátov na liečebné účely.

#### **254750 BACITRACIN B-10 and**

#### **254821 OLEANDOMYCIN OL-15:**

Tieto disky sa používajú na izoláciu druhu *Haemophilus influenzae* na neselektívnej pôde. Po naočkovaní izolačnej pôdy, napr. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)** alebo **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)**, položte disky s Bacitracínom alebo Oleandomycínom do oblasti prvej čiary. Po inkubácii možno izolovať baktériu *Haemophilus influenzae* z oblasti inibičnej zóny, pretože je rezistentná voči Bacitracínu a Oleandomycínu, zatiaľ čo väčšina normálnej flóry je týmito antibiotikami inhibovaná.<sup>13-15</sup>

#### **254881 NOVOBIOCIN NB-5**

Tento disk sa používa na diferenciáciu stafylokokov na druhy citlivé alebo rezistentné voči novobiocínu: Urobte agarový difúzný test na pôde Mueller Hinton II Agar a inkubujte 18 až 24 hodín. Rezistentné: <16 mm; citlivé: ≥16 mm. *Staphylococcus saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* a mnohé ďalšie druhy sú rezistentné, zatiaľ čo *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. schleiferi* a mnohé ďalšie druhy sú citlivé.<sup>16</sup>

#### **254828 POLYMYXIN B PB-300**

Tento disk sa používa na diferenciáciu stafylokokov na druhy citlivé alebo rezistentné voči polymyxínu (rovnaká metóda ako pri novobiocíne). Rezistentné <10 mm; citlivé ≥ 10 mm. *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hyicus* a *S. chromogenes* sú rezistentné.<sup>16</sup> Disk sa používa aj pri mnohých ďalších postupoch identifikácie.

#### **254802 METRONIDAZOL MET-80**

\*\*Tento disk sa používa na preverovanie (skrining) izolátov striktných anaeróbov (napr. druhu *Bacteroides*) na rezistenciu voči metronidazolu metódou riedenia disku živným bujónom.<sup>17,18</sup> Treba poznamenať, že túto metódu už komisia NCCLS neodporúča.<sup>11</sup> Diskovou difúznou metódou sa nesmú testovať ani striktné anaeróby.