

BD Sensi-Disc diskovi za testiranje osetljivosti

NAMENA

Sensi-Disc susceptibility test discs (Sensi-Disc diskovi za testiranje osetljivosti) se koriste za semi-kvantitativno *in vitro* testiranje osetljivosti, agar disk difuzionom tehnikom na običnim, brzo rastućim i izvesnim probirljivim bakterijskim patogenima. U ove patogene spadaju *Enterobacteriaceae*, vrste *Staphylococcus*, vrste *Pseudomonas*, vrste *Acinetobacter*, vrste *Enterococcus*, *Vibrio cholerae* i, po modifikovanim procedurama, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* i druge streptokoke.

Sensi-Disc diskovi za testiranje osetljivosti zasićeni bacitracinom, oleandomicinom, novobiocinom i polimiksinom B se ne koriste za određivanje osetljivosti ili otpornosti izolata u terapijske svrhe, već za izolaciju i/ili diferencijaciju bakterijskih izolata. Sensi-Disc diskovi zasićeni metronidazolom su se koristili da bi se bujon dilucionom metodom ispitala osetljivost izolati strogih anaeroba na metronidazol. Pogledajte fusnote u tabeli 1.

PRINCIPI I OBJAŠNENJE PROCEDURE

Agar difuzione metode koriste diskove od osušenog filter-papira natopljene specifičnim koncentracijama antimikrobnih agenasa razvijene su u četrdesetim godinama prošlog veka. Da bi eliminisali ili maksimalno smanjili varijacije pri ovom testiranju, Bauer i dr. su razvili standardizovanu proceduru u kojoj je Miler-Hinton agar izabran kao podloga za testiranje.^{1,2} Diskovi koji sadrže širok spektar antimikrobnih agenasa stavljaju se na površinu ploča sa Mueller Hinton agarom (ili *Haemophilus Test Medium* agarom za *H. influenzae*, GC II agarom obogaćenim preparatom IsoVitaleX za *N. gonorrhoeae* ili Mueller Hinton agarom sa 5% ovčije krvi za vrstu *S. pneumoniae*, β -hemolitičke i streptokoke iz grupe viridans) koje su inokulisane čistim kulturama kliničkih izolata. Posle inkubacije, ploče se pregledaju i inhibicione zone oko diskova se mere i porede sa utvrđenim veličinama zona za pojedinačne antimikrobne agense da bi se odredio agens ili agensi koji su najpogodniji za upotrebu u antimikrobnoj terapiji.

Razne regulativne agencije i organizacije za standardizaciju su objavile standardizovane referentne procedure zasnovane na Bauer-Kirbijevoj metodi. Među najranijim i najšire prihvaćenim od ovih normiranih procedura bile su one koje su objavile Američka agencija za hranu i lekove (U.S. Food and Drug Administration-FDA)³ i Svetska zdravstvena organizacija (World Health Organization-WHO).^{4,5} Procedura je kao opšteprihvaćeni standard usvojena od strane Nacionalnog komiteta za kliničke laboratorijske standarde (National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS) i s vremena na vreme se ažurira.^{6,7} Za aktuelne preporuke treba konsultovati najnovije dokumente NCCLS-a.

REAGENSI

Diskovi marke **Sensi-Disc** su diskovi od 6 mm koji se pripremaju natapanjem visoko kvalitetnog upijajućeg papira precizno određenim količinama antibiotika ili drugih hemoterapeutskih agenasa. Diskovi su jasno obeleženi sa obe strane slovima i brojevima koji označavaju agens i sadržaj leka. (Pogledajte tablicu u kojoj su date koncentracije reaktivnih sastojaka.) Sadržaj leka na diskovima se ispituje metodama koje je ustanovila FDA ili metodama koje su slične ili uporedive sa onima koje su objavljene u *Saveznom registru (Federal Register)* Sjedinjenih Američkih Država.³

Agensi **Sensi-Disc** se nalaze u pakovanjima od po 50 diskova. Poslednji disk u svakoj kutiji je obeležen sa „X“ i sadrži lek naveden u kodu. Kutije su za upotrebu u dispenserima **BBL Sensi-Disc**; u te dispensere spadaju dispenser za jedan disk, dispenser dispenser sa 8 mesta za Petrijeve

posude od 90 mm, dispenzer sa 6 i 8 mesta koje se same zatvaraju za posude od 90 mm i dispenzer sa 12 mesta koja se sama zatvara za ploče od 150 mm.

MERE OPREZA

IVD . Samo za profesionalnu upotrebu.

Pridržavajte se uputstava iz odeljka **PROCEDURE**; funkcionisanje diska ne zavisi samo od njegove jačine (potencije), već i od upotrebe pravilnog inokuluma i kontrolnih kultura, od prover funkcionalnosti ploča, pravilne temperature čuvanja i drugih faktora.

Držite se aseptičnih tehnika i ustanovljenih mera opreza protiv mikrobioloških opasnosti u toku svih procedura.

Konsultujte dokument **OPŠTA UPUTSTVA ZA UPOTREBU** da biste se upoznali sa procedurama za aseptično rukovanje, biološke opasnosti i način odlaganja iskorišćenog proizvoda.

ČUVANJE I VEK TRAJANJA

1. Po prijemu, čuvajte diskove na temperaturi od -20°C do +8°C. Ako se frižider u laboratoriji često otvara i zatvara i ne održava se adekvatna temperatura, stavite u njega zalihe samo za jednu nedelju. Neke diskove (npr. β-laktame) bi bilo poželjno držati zamrznute na temperaturi od -20°C.
2. Zagrejte kontejnere do sobne temperature pre otvaranja. Nakon nanošenja diskova vratite one koji nisu korišćeni u frižider.
3. Prvo koristite najstarije diskove.
4. Bacite diskove kojima je istekao rok trajanja. Kutije iz kojih su diskovi često vađeni u toku nedelje i diskove koji su ostali u laboratoriji u toku noći, takođe treba baciti; u suprotnom, treba testirati funkcionalnost diskova pre dalje upotrebe.
5. Ako diskovi formiraju nepravilne zone sa preporučenim kontrolnim organizmima, čitavu proceduru bi trebalo proveriti; veličina nepravilno formirane zone može biti posledica diska, inokulacije, pripreme ili dubine podloge, kao i nekih drugih faktora.

Rok trajanja važi samo za diskove u netaknutim kontejnerima koji se čuvaju prema uputstvu.

Diskovi iz otvaranih kontejnera koji se čuvaju kako je gore naznačeno se mogu koristiti sve dok zadovoljavaju standarde za veličinu zona sa odgovarajućim kontrolnim grupama bakterija.

KORISNIČKA KONTROLA KVALITETA⁶

Antimikrobne diskove treba testirati barem dva puta nedeljno kako bi se utvrdilo da li ispravno funkcionišu.

Vrste *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 (grupa koja proizvodi β-laktamazu) i *E. faecalis* ATCC 29212 se moraju koristiti da bi se videlo da li čitava procedura ispravno funkcioniše. Vrsta *E. faecalis* ATCC 29212 (ili 33186) se takođe preporučuje za evaluaciju niskog nivoa timina i timidina u novim serijama Mueller Hinton agara. Pogledajte odeljak **PROCEDURA – Procedura testa** za pripremu, inokulaciju, inkubaciju i očitavanje. Konsultujte NCCLS Standard M2-A8 (M100-S15) ili nacionalne standarde za očekivane veličine zona grupa bakterija za kontrolu kvaliteta.^{6,7}

PROCEDURA

Obezbeđeni materijal

Sensi-Disc diskovi za testiranje osetljivosti onako kako je naznačeno.

Materijal koji je potreban, ali nije obezbeđen

Pomoćna podloga za kultivisanje, reagensi, organizmi za kontrolu kvaliteta i laboratorijska oprema potrebna za testiranje osetljivosti disk difuzionom metodom po standardizovanoj proceduri.

Pripremite McFarland standard zamućenosti 0.5 dodavanjem 0,5 mL 0,048 M BaCl₂ [1,175% (wt/vol) BaCl₂·2H₂O] u 99,5 mL 0,18 M [0,36N] H₂SO₄ [1% (vol/vol)]. Potvrdite pomoću spektrofotometra sa svetlosnim snopom od 1 cm i odgovarajućom kivetom; apsorpcija na 625 nm treba da bude od 0,08 do 0,10.

Tipovi uzoraka

Obično ne treba upotrebljavati uzorke u ovom testu. Umesto njih, moraju se koristiti čiste kulture. Pogledajte odeljak **PROCEDURA – Procedura testa** u koji spada i priprema inokuluma. Ako je moguće, kulture treba dobiti iz uzoraka dobijenih od pacijenata pre početka antimikrobne terapije.

Procedura testa

1. Priprema inokuluma sa test kulturama i kontrolnim kulturama
 - a. Izvršite bojenje po Gramu. Koristite samo čiste kulture.
 - b. Izaberite tri do pet sličnih kolonija i prenesite ih iglom ili omčom za inokulaciju u 4 – 5 mL adekvatnog bujona kao što je **Trypticase** sojin bujon (ili Miler Hinton bujon za probirljive organizme).
 - c. Metoda direktnog suspenzija kolonija: Napravite suspenziju u bujonu ili slanom (fiziološkom) rastvoru od kolonija sa agarne ploče koja je inkubirana u toku noći (treba koristiti neselektivnu podlogu kao što je krvni agar ili čokoladni agar, za *H. influenzae* i *N. gonorrhoeae*).
 - d. Ako je potrebno, razblažite da biste dobili zamućenost ekvivalentnu McFarland standardu zamućenosti 0.5. Kao razblaživač koristite sterilni bujon ili fiziološki rastvor. Kao drugo rešenje, standardizujte inokulum fotometrijski; možete koristiti uređaj **Prompt Inoculation System** (volumetrijski uređaj za pripremu inokuluma) da biste olakšali podešavanje inokuluma za brzo rastuće organizme.⁸ Kulture iz bujona koje su ostale u toku noći ne treba koristiti kao inokulum.
2. Inokulacija
 - a. U roku od 15 minuta, umočite sterilni pamučni tupfer u pravilno podešeni inokulum i rotirajte ga energično nekoliko puta uz gornji unutrašnji zid epruvete da biste istisnuli višak tečnosti.
 - b. Izbrazdajte čitavu površinu agara na ploči sa Miler Hinton agarom (ili nekim drugim prikladnim agarom) tri puta, okrećući pri tom ploču za 60° između brazdi da biste postigli ujednačenu inokulaciju.
 - c. Poklopac može da ostane otvoren 3 do 5 minuta ali ne više od 15 minuta, kako bi se apsorbovala površinska vlaga pre stavljanja diskova natopljenih lekom.
3. Izaberite odgovarajuće diskove (poput onih koji su preporučeni u referenci 7, tabela 1 i 1A MI00-SI3 [M2]).
4. Nanesite diskove pomoću **BBL Sensi-Disc** dispenzera koristeći aseptične mere opreza. Postavite diskove tako da im centri budu udaljeni bar 24 mm. Poželjno je ostavljati diskove sa penicilinom i cefalosporinom tako da budu udaljeni ne manje od 10 mm od ivice Petrijeve posude, a da su im centri udaljeni najmanje 30 mm. Izbegavajte da stavljate takve diskove jedan pored drugog. Za *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* i *S. pneumoniae* ne koristite više od devet diskova po ploči od 150 mm ili četiri diska po ploči od 90 mm. Ako su diskovi stavljeni na agar nekim drugim dozerima, a ne dispenzerima, pritisnite ih sterilnom iglom ili pincetom da bi došli u kontakt sa podlogom.
5. U roku od 15 minuta, stavite ploče sa agarom stranom okrenutom na gore u inkubator na temperaturi od 35°C. Vrste *Haemophilus*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* i druge streptokoke treba inkubirati u aerobnoj atmosferi obogaćenoj 5% ugljendioksidom.
6. Pregledajte ploče posle 16 do 18 sati inkubacije (za *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* i druge streptokoke 20 do 24 sata). Za vrste *Staphylococcus* preporučuje se celodnevna inkubacija kako bi se otkrile stafilokoke otporne na meticilin, nafcilin i oksacilin kao i vrste *Enterococcus* otporne na vankomicin. **Prečnici zona kompletne inhibicije se mere, u zavisnosti od rezultata inspekcije golim okom.** Zone u milimetrima se zaokružuju na najbliži ceo broj. Za još neke detalje o merenju zona inhibicije, pogledajte referencu.⁶ Ako rastu samo izolovane kolonije, inokulum je suviše redak i test treba ponoviti. Zone oko diskova koji sadrže različite lekove nisu pogodne za upoređivanje aktivnosti lekova.

Rezultati^{6,7}

Preporučeni kriterijumi tumačenja zasnovani su na uobičajenim režimima doziranja i smernicama za izdavanje lekova u Sjedinjenim Američkim Državama. Na kraju treba konsultovati lokalne standarde.

Uporedite zabeležene prečnike zona sa onima koji su dati u dokumentu NCCLS Standard M2-A8 (M100-S15) ili nacionalnim standardima; rezultati sa pojedinačnim organizmom se mogu prijaviti kao otporan (rezistentan), srednje otporan (intermedijaran) ili osetljiv. Za neke kombinacije mikroorganizam/ antimikrobni agens, odsustvo otpornih grupa bakterija isključuje definisanje bilo kojih kategorija rezultata osim kategorije „Osetljiv“. Za grupe bakterija koje daju rezultate koji podsećaju na neku „neosetljivu“ kategoriju rezultate identifikacije organizma i testa antimikrobne osetljivosti treba proveriti. Ako je neophodno, metoda razblaživanja obično može da bude najpogodnija ogledna metoda, što može da zahteva slanje organizma referentnoj laboratoriji.⁷

Osetljivost vrste *Pseudomonas aeruginosa* izolovane od pacijenata koji imaju cističnu fibrozu može se pouzdano odrediti pomoću disk-metode, ali može da zahteva produženu inkubaciju i do 24 sata pre nego što bude potvrđena.

Enterokoke mogu da budu otporne na penicilin i ampicilin zbog proizvodnje proteina sa niskim afinitetom koji vezuju penicilin (penicillin-binding proteins, PBPs) ili produkcije β -laktamaze. Test sa difuzijom diska može precizno da prepozna izolate sa promenjenim PBPs-ovima, ali neće pouzdano prepoznati grupe bakterija koje proizvode β -laktamazu. Ove druge grupe bakterija najbolje se otkrivaju pomoću direktnog testa sa β -laktamazom;⁶ npr. sa **Cefinase** nitrocefinskim diskovima ili sa hromogenim cefalosporinskim diskovima.

Kada su u pitanju vrste *Enterococcus*, cefalosporini i aminoglikozidi (osim za ispitivanje otpornosti na visokom nivou), klindamicin i trimetoprim/sulfametoksazol možda deluju aktivno *in vitro*, ali nemoju kliničko dejstvo i izolate ne treba prijavljivati kao osetljive.

β -laktamaze proširenog spektra (Extended-spectrum β -lactamases, ESBL) su enzimi koje proizvode gram-negativni bacili nastali mutacijom u genima za plazmidske β -laktamaze. Grupe bakterija vrsta *Klebsiella* i *E. coli* koje proizvode ESBL-ove mogu da budu klinički otporne na terapiju penicilinom, cefalosporinima ili aztreonomom uprkos očiglednoj *in vitro* osetljivosti na neke od ovih agenasa. Neke od ovih grupa bakterija imaće inhibicione zone niže od normalne osetljive populacije, ali iznad standardnih prelomnih tačaka za izvesne cefalosporine produženog spektra ili aztreonam; treba ispitati da li u takvim grupama bakterija možda nastaju ESBL-ovi pomoću prelomnih tačaka u ispitivanju ESBL-a, a pre prijavljivanja rezultata za peniciline, cefalosporine produženog spektra ili aztreonam. Druge grupe bakterija se na testu možda pokažu srednje ili otporne na jedan ili više ovih agenasa po standardnim prelomnim tačkama. U svim grupama bakterija sa ESBL-ovima zonski prečnici za jedan ili više cefalosporina produženog spektra ili aztreonam mogu da se povećaju u prisustvu klavulanske kiseline, što je utvrđeno fenotipskim proverama. Za sve potvrđene grupe bakterija koje proizvode ESBL rezultate testa treba protumačiti kao otporne na sve peniciline, cefalosporine i aztreonam. Odluku da se izvedu ESBL skrining testovi na svim izolatima urina treba doneti na institucionalnom nivou, uzimajući u obzir prevalenciju, terapiju i kontrolu infekcije.⁷

Za otkrivanje stafilokoka otpornih na meticilin, test sa oksacilinskim diskom će verovatnije otkriti otpornost nego meticilinski ili nafcilinski diskovi. Iz tog razloga, oksacilinski disk od 1 μ g treba koristiti za testiranje otpornosti na meticilin /oksacilin. Bilo kakvu zonu oko oksacilinskog diska treba pažljivo pregledati pomoću svetla koje pada pod uglom kako bi se otkrile male kolonije ili tanki „film“ rasta u inhibicionoj zoni nakon celodnevnog inkubacije. Stafilokoke koje su otporne na meticilin su često otporne na više klasa antimikrobnih agenasa uključujući aminoglikozide, makrolide, klindamicin, fenikole, kinolone, sulfonamide i tetraciklin. Uočavanje višestruke otpornosti treba da ukazuje na mogućnost otpornosti na meticilin. Međutim, grupe bakterija vrste *S. aureus* otporne na meticilin koje ne pokazuju otpornost na druge klase antimikrobnih agenasa su izolovane i od stacioniranih i od ambulantnih pacijenata. Ako je rezultat testa sa difuzijom diska sumnjiv za neku vrstu *Staphylococcus* koja je potencijalno otporna na meticilin, obavite dodatne provere onako kako je opisano u NCCLS dokumentu M7.⁹ Bakterije vrste *S. aureus* i stafilokoke negativne na koagulazu koje su otporne na meticilin/oksacilin (methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA; methicillin-resistant staphylococci, MRS) treba prijavljivati kao otporne (ili ih ne prijavljivati uopšte) na sve peniciline, cefeme, karbapeneme i druge β -laktame, kao što su amoksicilin/klavulanska kiselina, ampicilin/sulbaktam, tikarcilin/klavulanska kiselina, piperacilin/tazobaktam i imipenem, bez obzira

na rezultate in vitro testiranja sa ovim agensima. To je zato što je većina slučajeva zabeleženih infekcija koje nastaju kao posledica stafilokoka otpornih na meticilin slabo reagovala na terapiju β -laktamom i ubedljivi klinički podaci koji potkrepljuju kliničku efikasnost za ove agense tek treba da se iznesu u javnost.⁶ Izolate stafilokoka za koje je dokazano da nose *mecA* gen ili proizvod PBP 2a, proizvod *mecA* gena, treba prijaviti kao otporne na oksacilin.

Kriterijumi tumačenja za stafilokoke negativne na koagulazu podudaraju se sa prisustvom ili odsustvom otpornosti na meticilin koja kodira gen (*mecA*) za vrstu *S. epidermidis*. Ovi kriterijumi za tumačenje mogu da ponište rezultate otpornosti za druge stafilokoke negativne na koagulazu, npr. *S. lugdunensis* ili *S. saprophyticus*. Za ozbiljne infekcije stafilokokama negativnim na koagulazu, izuzev vrste *S. epidermidis*, testiranje *mecA* ili proteina koga on proizvodi, proteina 2a koji vezuje penicilin (penicillin binding protein 2a, PBP 2a, takođe poznat kao PBP 2), može biti pogodno za grupe bakterija čiji su prečnici zona u rasponu srednje otpornih (intermedijarnih) ili otpornih organizama. Izolate za koje nije dokazano da nose *mecA* ili koji ne proizvode PBP 2a treba prijavljivati kao osetljive na oksacilin.

Objavljeno je da testiranje osetljivosti pomoću diska nije precizna metoda određivanja osetljivosti na meticilin (oksacilin) za koagulaza-negativne stafilokoke (tj. za vrstu *S. saprophyticus*).¹⁰ Rutinsko testiranje izolata iz urina vrste *S. saprophyticus* se ne preporučuje jer kod ovih infekcija postoji terapijski odgovor na koncentracije antimikrobnih agenasa dostignutih u urinu a koji se obično koriste za lečenje akutnih, nekomplikovanih infekcija urinarnog trakta (npr nitrofurantoin, trimetoprim/sulfametoksazol ili fluorokinolon).

Brzi test β -laktamaze (npr. pomoću **Cefinase** diskova) može da pruži klinički važne informacije pre nego rezultati testa sa difuzijom diska pomoću vrsta *Haemophilus*, vrste *N. gonorrhoeae* i vrste *Moraxella catarrhalis*; to je jedini pouzdani test za otkrivanje vrsta *Enterococcus* koje proizvode β -laktamazu. Pozitivan test sa β -laktamazom znači otpornost na penicilin, ampicilin i amoksisicilin među vrstama *Haemophilus*, vrstom *N. gonorrhoeae* i vrstom *M. catarrhalis* kao i otpornost na penicilin, uključujući acilamino, karboksi i ureido peniciline, među stafilokokama i enterokokama. Negativan test sa β -laktamazom ne isključuje otpornost zbog drugih mehanizama. Ne testirajte *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* i druge aerobne gram-negativne bacile zato što se na osnovu rezultata možda neće moći predvideti osetljivost na β -laktame koji se najčešće koriste u terapiji. Za precizno otkrivanje β -laktamaze u stafilokokama može biti potrebna indukcija enzima i inkubacija testa zasnovanog na nitrocefenu u trajanju od najviše jednog sata. Indukciju je lako ostvariti testiranjem rasta sa oboda zone oko testa sa oksacilinskim diskom. Mora se voditi računa kako bi se dobili precizni rezultati, što se odnosi i na testiranje poznatih grupa bakterija za pozitivnu i negativnu kontrolu u vreme kada se ispituju klinički izolati.⁶

Testiranje osetljivosti penicilina i drugih β -laktama koje je Američka agencija za hranu i lekove odobrila za lečenje streptokoka grupe A i B nije neophodno za kliničke potrebe i ne mora redovno da se radi, pošto kao i u slučaju vankomicina, otporne grupe bakterija još uvek nisu prepoznate. Međutim, neke grupe bakterija iz vrste *S. agalactiae* mogu da budu „srednje otporne“ (intermedijarne) prilikom testiranja sa penicilinom.

Testovi sa difuzijom diska pomoću ampicilina, penicilina i rifampina za vrstu *Neisseria meningitidis* su nepouzdan. Za ove organizme treba koristiti testove minimalne inhibitorne koncentracije (minimal inhibitory concentration, MIC).⁷

FUNKCIONALNE KARAKTERISTIKE I OGRANIČENJA PROCEDURE

Test onako kako je ovde opisan važi prevashodno za brzo rastuće aerobne patogene. Probirljive bakterije, izuzimajući vrste *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* i druge streptokoka, treba testirati metodom razblaživanja.⁹ Testiranje anaeroba zahteva specijalne procedure.¹¹

Za vrste *Campylobacter*, *Corynebacterium* i *Bacillus*, pouzdanost testa sa difuzijom agara nije dovoljna da bi se preporučila ova metoda.

Kategorije otporna, srednje osetljiva i osetljiva razlikuju se samo za jedan milimetar, što je u domenu normalne laboratorijske greške. Neke kulture mogu da imaju graničnu zonu koja se menja iz dana u dan ili od laboratorije do laboratorije; takve kulture su relativno retke.

Za otkrivanje otpornosti pneumokoka i enterokoka, strogo se pridržavajte metoda koje je preporučio NCCLS.⁶

Antimikrobni agensi, različiti od onih koji su navedeni u standardima, možda se trenutno upotrebljavaju. Testove osetljivosti koji koriste ove agense treba tumačiti na osnovu prisustva ili odsustva jasne zone inhibicije i treba ih smatrati kvalitativnim samo do roka do kog važe zone tumačenja. Sve zonske prečnike treba beležiti.

Testovi za potvrdu ESBL-a su validni samo ako se četiri diska (cefotaksim, cefotaksimski / klavulanska kiselina, ceftazidim i ceftazidimski/klavulanska kiselina) koriste istovremeno. NCCLS ne preporučuje da se ovi diskovi koriste pojedinačno.^{6,7}

Metode inokulacije i tumačenja kao i granice zonskih veličina koje su date u NCCLS standardima mogu se razlikovati od nacionalnih standarda.^{6,12}

Sensi-Disc Vancomycin (254858) – VAŽNO OBAVEŠTENJE Kod ovog proizvoda nije primećena sposobnost otkrivanja bakterije *Staphylococcus aureus* otporne na vankomicin (vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*, VRSA). Dodatne metode testiranja koje preporučuju Centri za kontrolu i prevenciju bolesti (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) treba koristiti pri testiranju osetljivosti izolata *S. aureus*, naročito *S. aureus* koja je otporna na meticilin (methicillin-resistant *S. aureus*, MRSA). Ovi testovi obuhvataju neautomatizovane metode MIC (npr. mikrodilucija rastvora ili razblaživanje (dilucija)agara) i ispitivanje sa vankomicinskim agarom (moždano-srčani infuzioni agar sa 6 µg/mL vankomicina). Ove metode zahtevaju 24-časovnu inkubaciju kako bi se otkrila VRSA.

Više informacija potražite na sajtu CDC-a.

REFERENCE

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.*

- Yolken (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. Yolken (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. Yolken (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 ceftioxin with the thioglycollate broth-disk procedure. J. Clin. Microbiol. 24: 181-185.

PAKOVANJE/DOSTUPNOST

BD Sensi-Discs

Pakuju se u staklenim epruvetama (sa zatvaračima koji sadrže desikant), jedna kasetna po epruveti. Prodajna jedinica: 10 epruveta.

Više informacija o dostupnosti kataloških brojeva i proizvoda možete pronaći u tabeli 1.

DODATNE INFORMACIJE

Ako su vam potrebne dodatne informacije, obratite se lokalnom predstavniku kompanije 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 Bergčs

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: **BD Sensi-Disc** proizvodi koji su dostupni u staklenim epruветama

REF	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	CEFACTOR 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

REF	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

Fusnote za tabelu 1:

*Ovi Sensi-Disc diskovi se koriste u raznim izolacionim i identifikacionim procedurama. Oni se ne koriste za testiranje osetljivosti izolata u terapeutske svrhe.

254750 BACITRACIN B-10 i

254821 OLEANDOMYCIN OL-15:

Ovi diskovi se koriste za izolaciju vrste *Haemophilus influenzae* na neselektivnim podlogama. Nakon inokulacije izolacione pločice, npr. **BD Chocolate Agar (GC II Agar with IsoVitaleX)** ili **BD Chocolate Agar (Blood Agar No. 2 Base)**, stavite disk sa bacitracinom ili oleandomicinom u oblast u koji je inokulum prvi put nanet. Posle inkubacije, vrsta *Haemophilus influenzae* se može izolovati iz oblasti inhibicione zone jer je ona otporna na bacitracin i oleandomicin, dok će većina normalne flore biti inhibirana ovim antimikrobima.¹³⁻¹⁵

254881 NOVOBIOCIN NB-5

Ovaj disk se koristi za diferencijaciju stafilokoka u vrste koje su osetljive i otporne na novobiocin. Izvedite test sa difuzijom agara na Mueller Hinton II agaru i inkubirajte od 18 do 24 sata. Otporna: <16 mm; osetljiva: ≥16 mm. Vrste *Staphylococcus saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. xylosus* i mnoge druge vrste su otporne, a vrste *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. schleiferi* i mnoge druge vrste su osetljive.¹⁶

254828 POLYMYXIN B PB-300

Ovaj disk se koristi za diferencijaciju stafilokoka u vrste koje su osetljive i otporne na polimiksin (metoda kao za novobiocin). Otporna <10 mm; osetljiva ≥ 10 mm. Vrste *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. hyicus* i *S. chromogenes* su otporne.¹⁶ Ovaj disk se takođe koristi u raznim drugim identifikacionim procedurama.

254802 METRONIDAZOL MET-80

**Ovaj disk se koristio za ispitivanje otpornosti na metronidazol kod izolata isključivih anaeroba (npr. vrste *Bacteroides*) pomoću metode sa elucijom diska u rastvoru.^{17,18} Mora se imati u vidu da NCCLS više ne preporučuje ovu metodu.¹¹ Isto tako, isključivi anaerobi se ne smeju testirati metodom sa difuzijom diska.