

E-TEST® Cephalothin (CE) (0.016-256 µg/mL)

E-test CE CEPHALOTHIN – E-тест цефалотин 256 (далее по тексту метод ETEST CE, ETEST, тест-полоска ETEST, метод ETEST, набор реагентов ETEST, тест, тест-полоска)

IVD

Назначение

E-TEST — это ручной количественный метод определения чувствительности к антимикробным препаратам грамотрицательных и грамположительных аэробных бактерий, и бактерий со сложными питательными потребностями. Система состоит из стандартного градиента антибиотика, который используется для определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК, выраженной в мкг/мл), различных антимикробных препаратов для микроорганизмов посредством культивирования на питательном агаре в течение ночи.

Показания к применению

Метод ETEST CE можно использовать для определения МИК цефалотина в отношении следующих микроорганизмов:

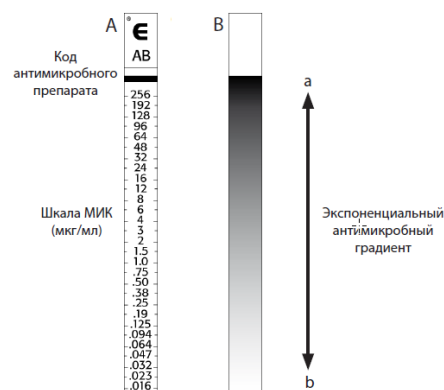
- Аэробы:
 - Грамотрицательные аэробы: *Enterobacterales*, *Acinetobacter*
 - Грамположительные аэробы: *Staphylococcus*

Принцип

E-TEST представляет собой тонкую, инертную, непористую пластиковую тест-полоску. На одну сторону тест-полоски (A) нанесена шкала МИК в мкг/мл, а на другую — стандартный градиент антибиотика.

Когда тест-полоску наносят на засеянную культурой микроорганизма поверхность агаризованной среды, предварительно сформированный градиент концентрации антибиотика немедленно проникает в агар, а затем образует стабильный, непрерывный, экспоненциальный градиент концентрации антибиотика непосредственно под тест-полоской. После инкубации, в результате которой бактериальный рост становится заметным, вдоль тест-полоски можно увидеть симметричный эллипс ингибирования. Значение МИК считывается со шкалы в мкг/мл при полном ингибировании роста бактерий в месте пересечения заостренного конца эллипса с тест-полоской.

Несмотря на сходство с диско-диффузионным методом (аналогичная процедура приготовления посевной культуры, выбор питательной среды и условия инкубации), ETEST не является диско-диффузионным методом и полностью отличается от обычных дисковых методов. Градиент концентрации антимикробного препарата в ETEST предварительно сформирован, предопределен и стабилен, и не зависит от диффузии.



Образец тест-полоски ETEST
(в зависимости от препарата доступны различные шкалы считывания)

Состав набора

REF 412307	Индивидуальная упаковка: 30 тест-полосок	Каждая тест-полоска содержит: • Диапазон МИК цефалотина: 0,016–256 мкг/мл
1 инструкция по применению, которую можно загрузить с сайта www.biomerieux.com/techlib		

Необходимые материалы, не включенные в комплект

Материалы

- Общелабораторное микробиологическое оборудование
- Тампоны (стерильные, нетоксичные и не слишком плотно скрученные) и пробирки.
- Ручной аппликатор [например, Mini Grip-It (номер по каталогу 411200), вакуумный пинцет NEMA C88™ (номер по каталогу 559804), пинцет или аналогичное устройство].
- McFarland Standard – Набор стандартов мутности МакФарланда (номер по каталогу 70900) или ему аналогичный.
- Инкубатор (+35 °C ± 2 °C).
- Микроорганизмы для контроля качества.
- Инокулятор RETRO C80™ (дополнительно) (номер по каталогу 559803).
- Аппликатор SIMPLEX C76™ (дополнительно) (номер по каталогу 559802).

Рекомендуемые питательные среды

Для определения чувствительности к антимикробным препаратам (AST) следует использовать высококачественные среды определенного состава, обеспечивающие хороший рост (см. **таблицу 1** в конце раздела «Инструкция по применению» настоящего вкладыша в упаковку). Для обеспечения получения точных и достоверных показателей МИК продукция выбранной торговой марки должна иметь хорошую воспроизводимость от партии к партии.

Чтобы проверить качество среды, проведите исследование с помощью подходящих штаммов микроорганизмов для контроля качества. См. вкладыш в упаковку, предоставляемый производителем среды.

Убедитесь, что толщина агара в чашке Петри составляет $4,0 \pm 0,5$ мм и имеет pH $7,3 \pm 0,1$.

Предостережения и меры предосторожности

- **Только для диагностики *in vitro*.**
- **Только для профессионального использования.** Данный тест предназначен для использования квалифицированными сотрудниками лаборатории.
- Всегда соблюдайте правила асептики во время работы с образцами бактериальных культур. Необходимо строго соблюдать установленные меры предосторожности в отношении микробиологических рисков.
- Тест-полоски предназначены только для однократного применения и не должны использоваться повторно.

Условия хранения и стабильность

- Хранить при температуре, указанной на упаковке.
- Не используйте реагенты после истечения срока годности, указанного на упаковке.
- Тест-полоски ETEST необходимо всегда хранить в сухом, прохладном, защищенном от воздействия яркого света месте.
- Не храните тест-полоски ETEST, оставшиеся после вскрытия индивидуальной упаковки.

Использование

- Перед использованием тест-полосок ETEST из нераскрытой упаковки необходимо осмотреть упаковку на предмет отсутствия повреждений. Не используйте в случае, если упаковка была повреждена.
- После изъятия из холодильника/морозильника необходимо выдержать индивидуальную упаковку при комнатной температуре до вскрытия (около 15 минут, если температура хранения составляла +4 °C, или около 30 минут, если температура хранения составляла -20 °C). Извлекать тест-полоску из упаковки следует непосредственно перед использованием. Перед вскрытием упаковки необходимо дождаться полного испарения влаги, которая могла сконденсироваться на внешней поверхности упаковки.

- Не прикасайтесь к поверхности тест-полоски, на которой находится градиент (к стороне, противоположной шкале МИК). Для взятия тест-полосок ETEST рекомендуется использовать ручной аппликатор [например, Mini Grip-It (**рис. 1**), вакуумный пинцет NEMA C88™ (**рис. 2**), пинцет или подобное им устройство]. В случае извлечения тест-полосок ETEST вручную пинцетом или подобным устройством разрешается прикасаться только к корешкам (тому месту, на которое нанесен 2- или 3-буквенный код).



Рис. 1

Извлечение тест-полоски ETEST из индивидуальной упаковки с помощью Mini Grip-It

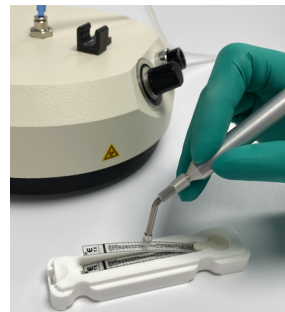
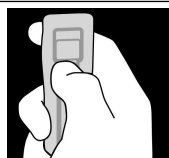


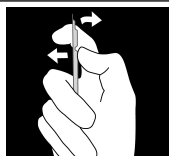
Рис. 2

Извлечение тест-полоски ETEST из картриджа с помощью вакуумного пинцета NEMA C88™

• Инструкции для индивидуальной упаковки:



Прежде чем открывать упаковку, осторожно постучите упаковкой по твердой поверхности, чтобы тест-полоска оказалась на дне упаковки, затем зажмите упаковку между большим и указательным пальцами, поместив кончик большого пальца в углубление на задней стороне.



Нажмите большим пальцем вперед и указательным пальцем назад, чтобы отломить алюминиевую оболочку, при этом влагопоглотитель должен остаться в верхней части упаковки.



Отогните верхнюю часть назад, чтобы полностью открыть упаковку.



Извлеките тест-полоску ETEST из упаковки с помощью пинцета или другого аппликатора.

Инструкция по применению

Приготовление суспензии и посев

1. Доведите среду и тест-полоски ETEST до комнатной температуры.
2. См. **таблицу 1** в конце этого раздела.
3. Подготовьте суспензию: суспендируйте хорошо изолированные колонии, выросшие на чашке с агаром в течение ночи. Убедитесь в наличии в посевной суспензии правильного количества КОЕ/мл (колониообразующая единица) относительно соответствующего стандарта по шкале МакФарланда. Данный пункт особенно важен для микроорганизмов со сложными питательными потребностями, и слизистых колоний микроорганизмов. При правильном приготовлении суспензии после культивирования должен быть получен сплошной или практически сплошной рост на поверхности среды.
4. Стандарты мутности по шкале МакФарланда не гарантируют правильного количества жизнеспособных бактерий в суспензии. Необходимо проводить регулярный подсчет колоний для проверки того, обеспечивает ли

используемая методика посева получение нужного количества жизнеспособных бактерий (в КОЕ/мл). Смотрите раздел **КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**.

5. Выполните посев: окуните в посевную суспензию стерильный, нетоксичный и не слишком туго скрученный тампон. Удалите избыток жидкости, прижав тампон к внутренней поверхности стенки пробирки. Удалите больше жидкости, когда делается посев на чашку диаметром 90 мм, и меньше при засевании чашки диаметром 150 мм. Тщательно распределите суспензию по поверхности агара штрихами в трех направлениях, каждый раз поворачивая чашку на 60 градусов, чтобы обеспечить равномерное распределение посевного материала. В качестве альтернативы можно использовать инокулятор RETRO C80™ для эффективного распределения посевной суспензии по поверхности агара (**рис. 3**) (инструкции см. в руководстве пользователя инокулятора RETRO C80™). Дайте избытку влаги адсорбироваться в течение 15–20 минут, так чтобы **поверхность была полностью сухой перед нанесением тест-полосок с градиентом ETEST**.

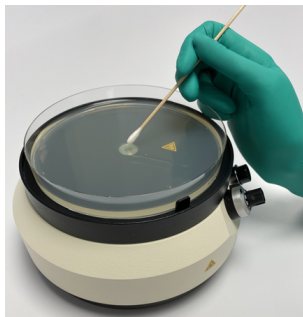


Рис. 3

Посев на чашку с агаром с помощью инокулятора RETRO C80™

Нанесение тест-полосок и инкубация

1. Убедитесь, что засеянная поверхность агара полностью сухая.
2. Откройте упаковку ETEST, как указано в инструкции по вскрытию и работе с тест-полосками.
3. Тест-полоски ETEST можно наносить на засеянную поверхность агара с помощью ручного аппликатора [Mini Grip-It, вакуумного пинцета NEMA C88™ (**рис. 4**), пинцета или другого аналогичного устройства] либо автоматического аппликатора SIMPLEX C76™ (**рис. 5**). Разместите тест-полоску ETEST шкалой МИК вверх (по направлению к крышке чашки) и максимальной концентрацией ближе к краю чашки (**рис. 4 и 5**).

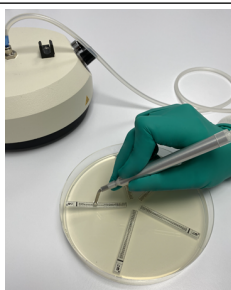


Рис. 4

Нанесение тест-полоски ETEST на поверхность агаризованной среды с помощью вакуумного пинцета NEMA C88™

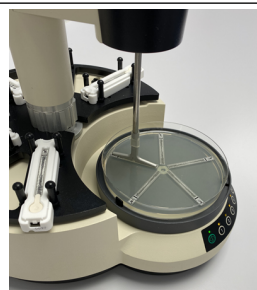


Рис. 5

Нанесение тест-полоски ETEST на поверхность агаризованной среды с помощью автоматического аппликатора SIMPLEX C76™

4. Можно использовать шаблон для оптимального помещения тест-полосок ETEST равноудаленно друг от друга в чашке с агаром. В одной чашке диаметром 150 мм с агаром можно разместить до шести тест-полосок ETEST (**рис. 6а**), а в одной чашке диаметром 90 мм с агаром — до двух (**рис. 6б**). Для микроорганизмов

с ожидаемой высокой чувствительностью используйте меньше тест-полосок на чашке диаметром 150 мм и только одну тест-полоску на чашке диаметром 90 мм.



5. Необходимо убедиться, что тест-полоска полностью прилегает к поверхности агара. Не следует размещать тест-полоску в перевернутом положении, так как эллипс ингибирования не образуется, поскольку антибиотик не может проникнуть через непористую пластиковую тест-полоску. При необходимости можно удалить воздушные полости, видимые под тест-полоской, осторожно нажимая на тест-полоску (не двигая ее) кончиком аппликатора или пинцетом, при этом направление движения должно быть от минимальной концентрации к максимальной. Маленькие пузырьки не влияют на результаты тестирования. **После нанесения тест-полоску нельзя сдвигать, поскольку происходит мгновенное высвобождение антибиотика в агар.**
6. Культивировать чашки с агаром следует в перевернутом положении (крышкой вниз), поставленными друг на друга, но не более 5 чашек, в соответствии с условиями, приведенными в руководстве ниже.

Таблица 1. Указания по выбору питательных сред, подготовке посевного материала и культивированию

Группа микроорганизмов	Агаризованная питательная среда	Посевной материал		Культивирование		
		Питательная среда ^{а)}	Оптическая плотность (по шкале МакФарланда)	Температура (±2 °C)	Атмосфера	Время (часы) ^{б)}
Аэробы	Мюллера-Хинтона	0,85 % NaCl (или солевой раствор)	0,5 (1, если колония слизистая)	+35 °C	Окружающая среда	16–20 20–24 ^{в)} в отношении <i>Acinetobacter</i> spp.

Примечания:

- а) Было установлено, что суспензиальный раствор (номер по каталогу V1204) (по тексту солевой раствор) совместим с ETEST.
- б) Убедитесь, что чашка с агаром культивировалась в течение рекомендованного периода времени, прежде чем снимать показания, особенно в случае замедленного проявления устойчивости и медленно растущих прихотливых микроорганизмов.
- в) Для медленно растущих изолятов *Acinetobacter* spp. время культивирования следует увеличить до 48 часов.

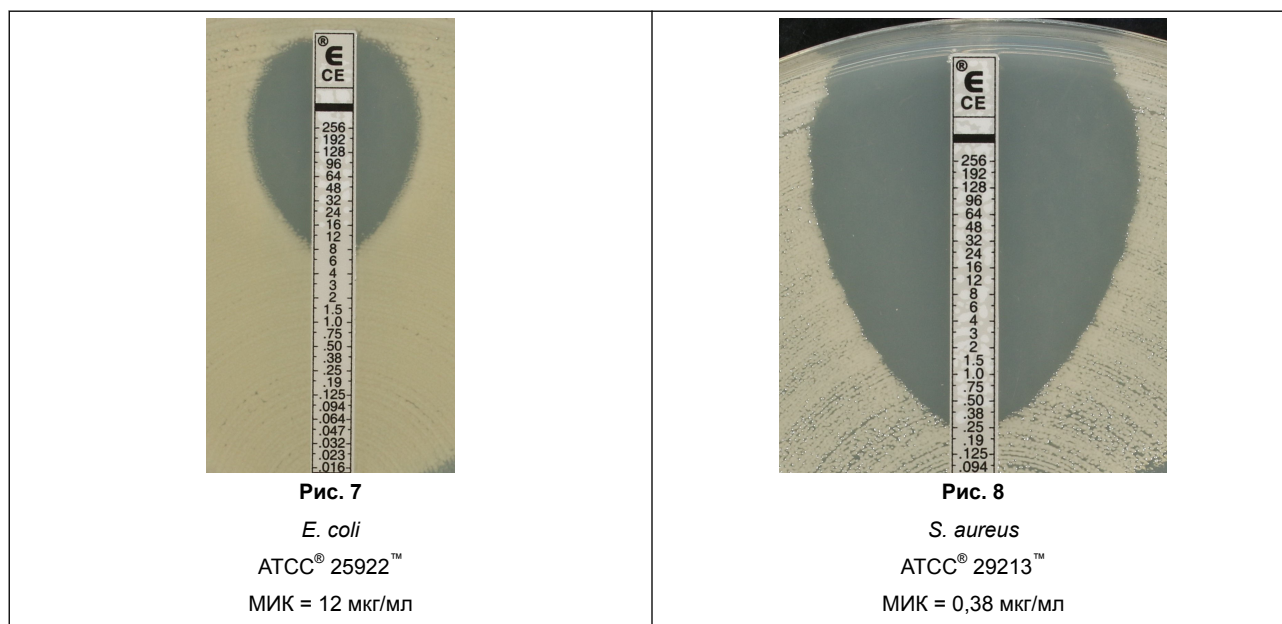
Результаты и интерпретация

Учет результатов

- Когда рост бактерий хорошо заметен, считайте значение МИК в месте, где эллипс ингибирования пересекает тест-полоску. Конечные значения МИК в методе ETEST обычно четко выражены, но могут наблюдаться и различные картины роста/ингибирования. См. иллюстрации ниже (**рисунки 7 и 8**).
- Не учитывайте результаты, если культура выглядит смешанной или если рост бактерий очень незначительный или слишком густой. Повторите тест.
- Для бактерицидных препаратов, таких как цефалотин, конечное значение МИК следует определять в точке полного ингибирования роста. Помутнение и макро- или микроколонии в пределах 3 мм от стрипа следует учитывать как рост.
- Рост вдоль всего градиента (отсутствие эллипса ингибирования) означает, что значение МИК выше или равно наивысшему значению на шкале. Эллипс ингибирования ниже градиента означает, что значение МИК ниже, чем наиболее низкое значение на шкале.

- Избыточная влага в чашках перед посевом, недостаточно высушенная поверхность перед наложением тест-полосок и/или неравномерно засеянные штрихом поверхности могут привести к отсутствию сплошного роста или зубчатым краям эллипса. Повторите тест, если учет конечных показателей МИК затруднен. В случае неровных пересечений МИК с полоской учитывайте большее значение. Если разведений > 1, повторите тест.
- Для точного определения конечных значений МИК в отношении *Acinetobacter* spp. наклоните чашку и/или используйте увеличительное стекло.
- В случае туннельного роста пренебрегайте тонкой линией роста вдоль тест-полоски.

Примеры учета результатов



Интерпретация

Для интерпретации значений МИК, полученных с помощью метода ETEST, можно пользоваться пороговыми значениями МИК для определения категорий интерпретации, опубликованными Управлением по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных средств (FDA)/CLSI, EUCAST и/или вашим национальным комитетом.

Текущие пограничные значения приведены на таких веб-сайтах: <https://www.fda.gov> и/или <https://clsi.org> и/или www.eucast.org.

Будучи полностью количественным методом определения МИК, ETEST дает возможность лаборатории сообщить точные значения МИК вместе с категорией интерпретации. ETEST определяет значения МИК по непрерывной шкале и может показать результаты в промежуточном положении между традиционными двукратными разведениями (в полразведения). Если значение МИК по методу ETEST находится между стандартными двукратными разведениями, то его следует округлить до ближайшего верхнего значения двукратного разведения перед тем, как категоризировать.

Пример пороговых значений МИК EUCAST (мкг/мл):

S Чувствительность при стандартном режиме дозирования	I Чувствительность при увеличенном воздействии	R Устойчивость
≤ 0,06	0,12–1	≥ 2

МИК 1 мкг/мл по методу ETEST категоризуется как чувствительность при увеличенном воздействии (I), в то время как концентрация 1,5 округляется до 2 мкг/мл и категоризуется как устойчивость (R).

Контроль качества

Чтобы проверить рабочие характеристики набора реагентов ETEST, качество сред, посевного материала и используемых процедур, протестируйте штаммы для контроля качества (КК), приведенные в следующей таблице. Реагенты и используемые процедуры считаются удовлетворительными, если полученные значения МИК соответствуют следующим спецификациям контроля качества:

МИК АНТИМИКРОБНОГО ПРЕПАРАТА (мкг/мл)	КОД	ШТАММЫ ДЛЯ КК ETEST		ДИАПАЗОНЫ МИК ДЛЯ КК ETEST (мкг/мл)
Цефалотин 0,016–256	CE	<i>E. coli</i>	ATCC® 25922™	4–16 ^{a)}
		<i>S. aureus</i>	ATCC® 29213™	0,125–0,5 ^{a)}

Примечания:

- а) CLSI M100. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 31st Edition.

Результаты анализа пациента не следует сообщать, если результаты КК выходят за пределы утвержденных значений КК. Частота проведения КК должна устанавливаться каждой лабораторией индивидуально.

Руководящие принципы представлены в документах по определению чувствительности к антибиотикам CLSI серий M07 и M100. ^{1, 2}

Пределы значений для КК метода ETEST могут отличаться от спецификаций CLSI и (или) EUCAST в некоторых случаях. Пределы значений для КК метода ETEST основываются на обширной базе, собранной при контрольном тестировании большого числа серий реактивов в течение нескольких лет, и включают данные многоцентровых исследований.

Если значения МИК в отношении штаммов для КК находятся на полразведения ниже нижнего предела КК, их следует округлить до ближайшего верхнего значения двукратного разведения перед тем, как установить соответствие КК. Подобным образом, если значения МИК находятся на полразведения выше верхнего предела КК, их следует считать несоответствующими КК.

Необходимо проводить регулярный подсчет колоний для проверки того, обеспечивает ли полученная плотность суспензии посевного материала получение достаточного количества жизнеспособных бактерий в КОЕ/мл. Пригодный материал для посева даст приблизительно от 1–5 × 10⁸ КОЕ/мл.

Стандарты мутности по МакФарланду не гарантируют правильного количества жизнеспособных бактерий в КОЕ/мл.

Ожидаемые результаты

Уровни чувствительности к антибиотикам для различных биологических популяций бактерий больше невозможно предсказать в связи с прогрессивным развитием устойчивости. Поэтому лаборатория должна пользоваться ожидаемыми результатами МИК различных антибиотиков для референтных штаммов контроля качества, чтобы обеспечить соответствие техники тестирования необходимым требованиям и разумную точность получаемых клинических результатов.

Рабочие характеристики

Рабочие характеристики метода ETEST для цефалотина были установлены с использованием сравнительных оценок. Эти исследования показали, что МИК по методу ETEST CE коррелируют с референтным методом CLSI M07¹. Метод ETEST считается по существу эквивалентным методам CLSI, когда значения МИК из обеих процедур показывают полное соответствие (EA) ≥ 90 % в пределах ± 1 разведения.

Рабочие характеристики приведены ниже:

Микроорганизм	Штаммы (N)	% полного соответствия (EA) ^{a)}
Аэробы	542	99

Примечания:

- а) EA — % значений МИК в пределах ± 1 разведения референтного метода.

Важные замечания

1. Иногда некоторые комбинации бактерии и антибиотика дают неожиданные результаты. В таких случаях малоопытному персоналу будет сложно принять решение по конечному значению МИК. Однако, чтобы научиться правильно определять конечные значения МИК, сотрудники могут практиковаться, регулярно используя референтные штаммы и сравнивая свою работу с результатами квалифицированных работников.
2. Как и все данные AST, результаты ETEST являются только значениями *in vitro* и могут указывать на потенциальную чувствительность микроорганизмов *in vivo*. Использование результатов при выборе лечения должно быть единоличным решением и ответственностью лечащего врача. Он должен принимать во внимание медицинский анамнез и всю известную информацию о пациенте, фармакокинетические и фармакодинамические свойства антибиотика и клинический опыт лечения данным препаратом инфекций, вызванных конкретным бактериальным патогеном. Также следует учитывать тип антибиотика, дозу и режим дозирования.
3. Для получения дополнительной информации о конкретных ограничениях в интерпретации результатов и/или ограничениях клинического использования антибиотика в различных терапевтических ситуациях см. таблицы и сноски на стандарты интерпретации МИК в последних версиях рекомендаций EUCAST или документов CLSI по определению чувствительности к антибиотикам для процедур разведения (серии M07 и M100).^{1, 2, 3}

Утилизация отходов

Утилизируйте использованные и неиспользованные реагенты, а также контаминированные расходные материалы в соответствии с требованиями, предъявляемыми для утилизации инфекционных материалов.

Каждая лаборатория обязана обращаться с полученными отходами и стоками в соответствии с их типом и степенью опасности, а также обрабатывать и утилизировать их в соответствии с установленными правилами и нормами.

Список литературы

1. CLSI M07: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically (Latest edition) (CLSI M07: Методы проведения тестов на определение чувствительности аэробных бактерий к антимикробным препаратам путем разведения (последнее издание)).
2. CLSI M100: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing (Latest edition) (CLSI M100. Нормативные показатели тестирования антимикробной чувствительности (последнее издание)).
3. EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Latest edition) (EUCAST: Европейский комитет по тестированию чувствительности к антимикробным препаратам (последнее издание)).

Таблица символов и обозначений

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Изготовитель
	Температурный диапазон
	Использовать до
	Код партии
	Запрет на повторное применение

Символ	Обозначение
	Обратитесь к инструкции по применению
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов
	Дата изготовления

Ограниченная гарантия

Компания bioMérieux гарантирует, что рабочие характеристики данного изделия соответствуют указанному предусмотренному назначению в течение всего срока эксплуатации при условии, что строго соблюдены все процедуры по использованию, хранению и обработке и меры безопасности, как подробно изложено в инструкциях по эксплуатации.

За исключением вышеуказанных случаев, компания bioMérieux не дает никаких гарантий, в том числе подразумеваемых гарантий товарного качества и гарантий соответствия предполагаемому использованию, и не дает никаких обязательств, в том числе явно выраженных, подразумеваемых или косвенных, в отношении использования какого-либо реагента, программного обеспечения, прибора и расходных материалов (далее — «Система»), отличного от указанного в инструкциях по эксплуатации.

История пересмотров

Категории типов изменений

Н/П	Не применимо (первое издание)
Корректурa	Исправление ошибок в документации
Технические изменения	Добавление, пересмотр и/или удаление касающейся продукта информации
Административные изменения	Введение изменений нетехнического характера, заслуживающих внимания пользователя

Примечание. Незначительные типографские, грамматические изменения и изменения в форматировании в историю пересмотров не включены.

Дата выпуска	Номер версии	Тип изменений	Обзор изменений
2021-06	059325-01	Первое издание	Н/П

Для получения технической консультации и поддержки просьба обращаться к уполномоченному представителю производителя на территории Российской Федерации:

ООО «биоМерье Русс»

Адрес: Россия, 115230, Москва, 1-ый Нагатинский проезд, д. 10, стр. 1

Тел./факс: +7 (495) 221 10 79

Телефон горячей линии: 8 (800) 250 10 79

e-mail: info.russia@biomerieux.com

веб-сайт: www.biomerieux-russia.com

В случае выявления побочных действий, не указанных в инструкции по применению или руководстве по эксплуатации медицинского изделия, нежелательных реакций при его применении, особенностей взаимодействия медицинских изделий между собой, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации медицинских изделий, необходимо направить сообщение, содержащее указанные сведения, в Федеральную службу по надзору в сфере здравоохранения в соответствии с действующим законодательством.

BIOMÉRIEUX, логотип BIOMÉRIEUX, ETEST, стрип ETEST, NEMA C88, RETRO C80 и SIMPLEX C76 являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации товарными знаками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний.

CLSI является товарным знаком, принадлежащим Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Товарный знак и товарное имя ATCC, а также любые номера по каталогу ATCC — товарные знаки компании American Type Culture Collection.

EUCAST означает Европейский комитет по тестированию чувствительности к антимикробным препаратам. Эти данные были предоставлены EUCAST на безвозмездной основе и доступны на сайте EUCAST: www.eucast.org. Авторские права на них остаются у EUCAST. Рекомендации EUCAST часто обновляются. Их последние версии доступны на веб-сайте www.eucast.org.

Другие названия и товарные знаки принадлежат их законным владельцам.

Фотографии: bioMérieux SA