

Тестирование антимикробной чувствительности

IVD

НАЗНАЧЕНИЕ

Etest является количественным методом определения антимикробной чувствительности грамотрицательных и грамположительных аэробных бактерий, таких как *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Staphylococcus* и виды *Enterococcus* и прихотливых бактерий, таких как анаэробные бактерии, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae*, *Streptococcus* и *Haemophilus*. Система состоит из стандартного градиента антибиотика, который используется для определения минимальной ингибирующей концентрации (МИК), выраженной в µг/мл, различных антимикробных препаратов для микроорганизмов посредством культивирования на питательном агаре в течение ночи.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ТОЛКОВАНИЕ

Современные методы тестирования антимикробной чувствительности (AST) основываются или на количественном методе серийных разведений, или на качественном методе диффузии. В основе метода разведения лежит принцип двукратных серийных разведений антибиотиков в бульоне или питательном агаре. Эти методы определяют значение минимальной ингибирующей концентрации (МИК) отдельно взятого антибиотика в µг/мл, при котором рост определенной бактерии будет подавлен при заданных экспериментальных условиях.

ПРИНЦИПЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Методика градиента Etest комбинирует метод разведений и принципы диффузии при определении чувствительности. Как и другие методы разведений, Etest непосредственно выражает антимикробную чувствительность количественно в виде отдельных значений МИК. Однако, используя стандартный, стабильный и постоянный градиент концентрации антибиотика, с помощью Etest можно получить более точные и воспроизводимые значения МИК, чем результаты, полученные при традиционном методе, основанном на прерывистом двукратном серийном разведении.

Etest представляет собой тонкую, инертную, непористую пластиковую тест-полоску. На одну сторону тест-полоски (A) нанесена шкала МИК в µг/мл и двух- или трехбуквенный код вверху для обозначения наименования антибиотика. На другой строны тест-полоски (B) зафиксирован стандартный экспоненциальный градиент антибиотика в сухом и стабилизированном виде с максимальной концентрацией в точке **a** и минимальной в точке **b** (рис. 1). Градиент покрывает непрерывный диапазон концентрации в пределах 15 двукратных разведений традиционного метода МИК.

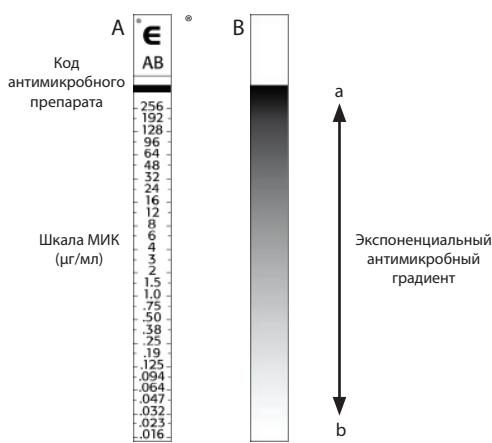


Рис. 1: Конфигурация градиента Etest

Когда тест-полоска с градиентом Etest накладывается на поверхность засеянного агара, подготовленный градиент антибиотика сразу и эффективно попадает с несущей пластиковой поверхности в агаровую матрицу. Стабильный, постоянный экспоненциальный градиент концентраций антибиотика формируется непосредственно под тест-полоской. После инкубации, в результате которой бактериальный рост становится видимым, вдоль тест-полоски можно увидеть симметричный эллипс ингибирования. В месте пересечения заостренного конца эллипса с тест-полоскойчитываются значения МИК в µг/мл.

Для получения воспроизводимых результатов МИК при использовании метода градиента очень важно поддерживать стабильность градиента в течение всего критического периода, когда определяется граница роста/ингибирования для определенной комбинации бактерии и антибиотика. Благодаря стабильности и точности стандартного градиента Etest, было доказано, что значения МИК являются воспроизводимыми и соответствуют значениям, полученным при референсном методе разведений CLSI®.

РЕАКТИВЫ

Etest поставляется в упаковке по 30 или 100 тест-полосок одного антимикробного препарата (в зависимости от формата упаковки).

ХРАНЕНИЕ

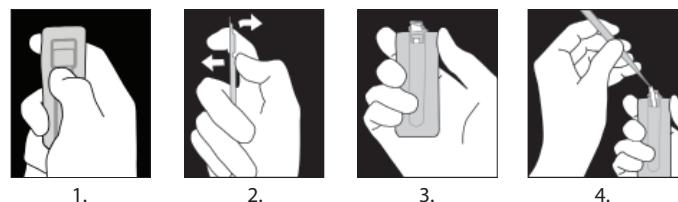
Тест-полоски Etest всегда должны храниться при температуре, указанной на упаковке, до истечения срока годности. Тест-полоски всегда можно хранить при температуре меньшей, чем максимальная указанная.

Тест-полоски с градиентом Etest, оставшиеся неизрасходованными из открытой упаковки, следует хранить в сухом месте. Открытую упаковку следует плотно закрыть герметизирующим зажимом или поместить в воздухонепроницаемый контейнер с активным влагопоглотителем и хранить в пределах температур, указанных на этикетке. При правильном хранении и обращении неизрасходованные тест-полоски в контейнерах для хранения можно использовать до истечения срока годности. Следует убедиться, что на контейнере для хранения указаны номер серии и дата окончания срока годности. Тест-полоски Etest необходимо всегда хранить в сухом, прохладном, защищенном от воздействия яркого света месте.

Необходимо следить за тем, чтобы влага не проникала в упаковку и контейнер для хранения и не конденсировалась в них. Тест-полоски Etest необходимо хранить сухими с помощью активного влагопоглотителя.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

- Перед использованием тест-полосок с градиентом Etest из нераскрытым упаковки необходимо осмотреть упаковку на предмет отсутствия повреждений. Не допускается использование тест-полосок с градиентом из поврежденных упаковок.
- После изъятия из холодильника/морозильника необходимо выдержать заводскую упаковку или контейнер при комнатной температуре до вскрытия (около 15 минут при начальной температуре +4 °C, около 30 минут при начальной температуре -20 °C). Перед вскрытием упаковки необходимо дождаться полного испарения влаги, которая могла сконденсироваться на внешней поверхности упаковки. Упаковки, хранимые при комнатной температуре, можно использовать сразу.
- Инструкции по вскрытию упаковки:
 - Единичная упаковка (см. на рисунок внизу)
 - Держите 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 так, чтобы влагопоглотитель остался вверху упаковки.
 - Согните верхнюю часть назад, чтобы полностью открыть упаковку.
 - Извлеките тест-полоску Etest из упаковки с помощью пинцета или другого ручного аппликатора.



- Блистерная упаковка
 - Откройте один блистерный отдел, ножницами разрезав упаковку вдоль пунктирной линии.
- Пенопластовая упаковка
 - Откройте упаковку, ножницами отрезав один конец алюминиевого пакета.

- При обращении с тест-полосками Etest вручную их можно брать только за верхнюю часть, т. е. область, обозначенную Е. **Нельзя прикасаться к поверхности полоски в зоне нанесения градиента антибиотика, т. е. со стороны, противоположной стороне с нанесенной шкалой МИК (рис. 1, В).** До начала использования тест-полоски можно поместить в лоток аппликатора (рис. 3). Успешно взять тест-полоски Etest можно с помощью ручного аппликатора (например, Mini Grip-It, пинцетом или подобными устройствами) или вакуумного пинцета Nema C88™ (bioMérieux SA) (рис. 3 и 4). Пенопластовые картриджи с полосками Etest должны быть напрямую загружены в прибор для автоматического нанесения Simplex C76™ (bioMérieux SA).

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Тест-полоски Etest предназначены только для диагностики *in vitro*.
- Хотя методика применения тест-полосок Etest проста, тестирование должно проводиться только обученным персоналом.
- При обращении с образцами бактериальных культур необходимо использовать асептические методы и меры предосторожности, направленные на предотвращение угрозы микробного заражения.

ПРОЦЕДУРЫ

Представляемые материалы

- 30 или 100 тест-полосок Etest одного антибиотика
- 1 листок-вкладыш + ТАБЛИЦА 1, поставляемые в комплекте или доступные для скачивания с веб-сайта www.biomerieux.com/techlib

Необходимые материалы, не предоставляемые в наборе

- Чашки с агаровой средой (90 мм или 150 мм) с соответствующим раствором для тестирования чувствительности
- Посевная суспензия
- Тампоны (стерильные, нетоксичные и не слишком плотно скрученные), пробирки и ножницы
- Ручной аппликатор [например, Mini Grip-It (bioMérieux Ref. № 411200), пинцет или подобное устройство] или bioTools [Retro C80™ (bioMérieux Ref. № 559803), Nema C88™ (bioMérieux Ref. № 559804), Simplex C76™ (bioMérieux Ref. № 559802)]
- Стандарт мутности 0,5 и 1 по шкале МакФарлана (bioMérieux Ref. № 70 900) или DENSIMAT (bioMérieux Ref. № 99 234)
- Инкубатор ($35 \pm 2^{\circ}\text{C}$), анаэростат или камера, обогащенная CO_2
- Микроорганизмы для контроля качества (например, LyfoCults® Plus)
- Контейнеры для хранения с капсулами активного влагопоглотителя (bioMérieux Ref. № 501603, 559900, 559901 или 559902), или пакеты и/или герметизирующие зажимы (bioMérieux Ref. № 559809)

Питательная среда

Убедитесь, что глубина чашки с агаром составляет $4,0 \pm 0,5$ мм, $\text{pH} 7,3 \pm 0,1$, и что выполняются требования к качеству. Питательная среда и добавки будут зависеть от тестируемых групп микроорганизмов (таблица 2).

Приготовление суспензии

Пользуйтесь инструкциями для приготовления суспензии, приведенными в таблице 2. Суспендируйте несколько хорошо изолированных колоний из выдержанной в течение ночи чашки с агаром в подходящей для суспензии среде до получения суспензии требуемой мутности относительно стандартов мутности по шкале МакФарлана. Для прихотливых микроорганизмов, таких как пневмококки, стрептококки, гонококки, анаэробы и *Haemophilus* spp., используйте суспензию, приготовленную на бульоне в течение 15 минут.

Посев

Смочите стерильный, нетоксичный и не слишком плотно скрученный тампон в посевной суспензии и отожмите лишнюю жидкость, придавив его к внутренней стенке пробирки. Удалите больше жидкости, когда делается посев на 90 мм чашку, и меньше при засевании 150 мм чашки. Тщательно трижды застрихуйте всю поверхность агара, каждый раз поворачивая чашку на 60° градусов, чтобы обеспечить равномерное распределение посевного материала. Либо используйте Retro C80 (устройство для автоматического засева bioMérieux SA) для эффективного распределения посевной суспензии по поверхности агара. Дайте избытку влаги адсорбироваться в течение 15–20 минут, так чтобы **поверхность была полностью сухой перед нанесением тест-полосок с градиентом Etest**.

Примечания:

- При оптимальной суспензии и посеве должен быть получен равномерный сплошной рост колоний на поверхности среды.
- Стандарты мутности по шкале МакФарлана не гарантируют правильное количество жизнеспособных бактерий в суспензии. Необходимо проводить регулярный подсчет колоний для проверки того, обеспечивает ли используемая методика посева получение правильного количества жизнеспособных бактерий (в КОЕ/мл). Смотрите раздел **КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА**.
- Дополнительная техническая информация представлена в руководстве по применению Etest (EAG), опубликованном на сайте www.biomerieux.com/techlib.

Нанесение тест-полосок

Проверьте, чтобы засеваемая поверхность агара была полностью сухой перед нанесением тест-полосок с градиентом Etest.

Откройте упаковку и обращайтесь с тест-полосками Etest в соответствии с указаниями, приведенными в разделе **ИСПОЛЬЗОВАНИЕ**.

Можно использовать шаблон для оптимального помещения тест-полосок Etest равнодалеко друг от друга в чашке с агаром. В одной 150 мм чашке с агаром можно разместить от четырех до шести (максимальное количество) тест-полосок Etest (рис. 2a). Для определения одной МИК одну или две тест-полоски можно использовать в одной 90 мм чашке с агаром (рис. 2b). При использовании аппарата Simplex C76 (рис. 6) размещение тест-полосок автоматически оптимизировано. Для микроорганизмов с ожидаемой высокой чувствительностью используйте меньше тест-полосок на 150 мм чашку с агаром и одну на 90 мм чашку.

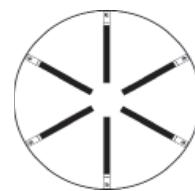


Рис. 2a.
Образец для 6 тест-полосок
в 150-мм чашке

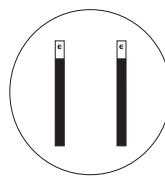


Рис. 2b.
Образец для 2 тест-полосок
в 90-мм чашке

Для нанесения тест-полосок Etest на поверхность засеянной агаровой среды используйте пинцет, ручной аппликатор, Nema C88 (рис. 5) или Simplex C76 (рис. 6). Следует всегда помещать тест-полоску с градиентом Etest **шкалой МИК вверх** (шкалой в сторону крышки чашки) и максимальной концентрацией ближе к краю чашки (рис. 2a).

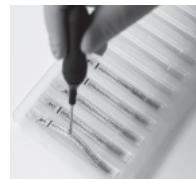


Рис. 3.
Поднятие тест-полоски Etest с лотка
с помощью Mini Grip-It



Рис. 4.
Тест-полоски Etest можно загружать
непосредственно из кассеты при помощи
Nema C88



Рис. 5.
Нанесение тест-полоски Etest на
поверхность агаровой среды с помощью
Nema C88



Рис. 6.
Автоматический аппликатор
Simplex C76

Необходимо убедиться, что тест-полоска полностью прилегает к поверхности агара. Не следует размещать тест-полоску в перевернутом положении, так как эллипс ингибиции не образуется, поскольку антибиотик не может проникнуть через непористый пластиковый носитель. При необходимости можно удалить воздушные полости, видимые под тест-полоской, осторожно нажимая на полоску (не двигая её) кончиком аппликатора или пинцетом, при этом направление движения должно быть направлено от минимальной концентрации к максимальной. Маленькие пузырьки не влияют на результаты тестирования. **После нанесения полоску нельзя сдвигать из-за мгновенного высвобождения антибиотика в агар.**

Культтивирование

Культтивировать чашки с агаром следует в перевернутом положении (крышкой вниз), поставленными друг на друга, но не более 5 чашек, в соответствии с условиями, приведенными в таблице 2 и руководстве по применению Etest (EAG), опубликованном на веб-сайте www.biomerieux.com/techlib.

Таблица 2. Рекомендованная питательная среда, посевной материал и культивирование¹⁾

Группа микроорганизмов	Агаровая питательная среда ³⁾	Посевная культура		Культивирование		
		Суспензия	Степени мутности по шкале МакФарланда	Температура ($\pm 2^{\circ}\text{C}$)	Атмосфера ⁸⁾	Время (часы) ⁹⁾
Аэробы	Mueller Hinton ^{4) 5) 6)}	0,85 % NaCl (или 0,45 % солевой раствор VITEK 2) ¹⁰⁾	0,5 (1 в случае слизистой консистенции)	35 °C	окружающая среда	16—20
ORSA/ ORSE	Mueller Hinton + 2 % NaCl (только Etest оксациллина)	0,85 % NaCl (или 0,45 % солевой раствор VITEK 2) ¹⁰⁾	0,5	35 °C	окружающая среда	24 ORSA 48 ORSE
Анаэробы	Кровяной агар для Brucella	Бульон для Brucella или бульон Mueller Hinton (или бульон Schaedler + витамин K3) ¹⁰⁾	1	35 °C	80—85 % N ₂ / 5—10 % CO ₂ / 10 % H ₂ ⁷⁾	24—48—72 в зависимости от видов
<i>Haemophilus influenzae</i>	HTM (CLSI) MHF (EUCAST)	Бульон Mueller Hinton или HTM бульон (или бульон с сердечно-мозговым экстрактом (BHI)) ¹⁰⁾	0,5 (1 в случае слизистой консистенции)	35 °C	5 % CO ₂	20—24
<i>Streptococcus pneumoniae</i> и стрептококки ²⁾	Mueller Hinton + 5 % кровяной агар (CLSI) MHF (EUCAST)	Бульон Mueller Hinton (или 0,45 % солевой раствор VITEK 2 или бульон BHI) ¹⁰⁾	0,5 (1 в случае слизистой консистенции)	35 °C	5 % CO ₂	20—24
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Основа GC агара + определенные добавки	Бульон Mueller Hinton (или бульон BHI) ¹⁰⁾	0,5	35 °C	5 % CO ₂	20—24

Примечания:

- Дополнительная информация касательно конкретного применения предоставлена в документации на тест-полоски Etest, опубликованной на сайте www.biomerieux.com/techlib.
- Включает β-гемолитический стрептококк групп A, B, C и G и группу стрептококков варианта S. mutans, S. mitis, S. sanguis и S. bovis.
- Используйте строго определенную и высококачественную питательную среду, поддерживающую хороший рост колоний. Для обеспечения получения точных и достоверных показателей МИК продукция выбранной торговой марки должна иметь хорошую воспроизводимость от партии к партии.
- Для триметопrima и триметопrima/сульфаметоксазола следует убедиться, что торговая марка и партия агара имеет низкое содержание тимина/тимицина, чтобы свести к минимуму antagonism действия триметопrima и сульфамидов.
- Содержание кальция в агаре Mueller Hinton может отличаться для различных марок агара и между различными партиями. Необходимо проводить контроль качества каждой партии агаровой среды, особенно при тестировании даптомицина.
- Содержание магния в агаре Mueller Hinton может отличаться для различных марок агара и между различными партиями. Необходимо проводить контроль качества каждой партии агаровой среды, особенно при тестировании тигециклина.
- Чтобы избежать ложно резистентных результатов с метронидазолом, следует использовать эффективную анаэробную систему для создания быстрого анаэробиоза.
- Когда культивируются прихотливые микроорганизмы в 5 % CO₂, происходящее в результате этого понижение водородного показателя может негативно сказаться на действии макролидов, линкозамидов, стрептограмминов, аминогликозидов, хинолонов, пенициллинов и тетрациклинов. Следует принять к сведению, что между системами, культивированными в окружающей среде и в CO₂, может наблюдаться разница в результатах.
- Убедитесь, что чашка с агаром культивировалась в течение рекомендованного периода времени, прежде чем снимать показания, особенно это касается замедленного проявления устойчивости и медленно растущих и прихотливых микроорганизмов.
- Доказано, что 0,45 % солевой раствор VITEK 2 (bioMérieux Ref. № V1204), бульон Schaedler + витамин K3 (bioMérieux Ref. № 42106) и бульон с сердечно-мозговым экстрактом (BHI) (bioMérieux Ref. № 42081) совместимы с Etest.

ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**Учет результатов МИК**

После требуемого инкубационного периода (таблица 2) и только при ясно видимом бактериальном росте, отметьте значения МИК в месте, где заостренный конец эллипса ингибиции пересекает тест-полоску. Не снимайте результаты, если культура выглядит смешанной или если бактериальный рост очень незначительный или слишком густой. Повторите тест.

Конечные показатели МИК в методе Etest обычно четко выражены, но возможно увидеть и различные картины роста-ингибиции. Ознакомьтесь с ниже приведенными рекомендациями и иллюстрациями в **ИНСТРУКЦИИ ПО УЧЕТУ РЕЗУЛЬТАТОВ ETEST** (Рис. 7—26).

ВАЖНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ ПО УЧЕТУ РЕЗУЛЬТАТОВ

- Обратитесь к информационному листку пользователя (CIS 006) за информацией по поводу способа действия каждого антибиотика (бактерицидного и бактериостатического).
- Для бактерицидных препаратов, таких как β-лактамы, всегда снимайте показания МИК после полной остановки роста всех организмов, включая зоны помутнения, микроколонии и изолированные колонии. Наклоните чашку и/или воспользуйтесь лупой, чтобы внимательно исследовать конечные показатели, особенно для пневмококков, стрептококков, энтерококков, фузобактерий, *Acinetobacter* и *Stenotrophomonas* spp.
- Для бактериостатических препаратов, таких как триметоприм/сульфаметоксазол, при наличии стелющихся конечных показателей, снимайте показания в месте 80 % ингибиции, т.е. в первой точке значительного ингибиции, видимой невооруженным глазом.
- Изысканная влага в чашках перед посевом, недостаточно высушенная поверхность перед наложением тест-полосок и/или неравномерно засеянные штрихом поверхности могут привести к отсутствию сплошного роста, зубчатым краям эллипса и неровному пересечению МИК с полоской. Повторите тест, если конечные показатели МИК тяжело считывать.
- При наличии макрополоний в пределах эллипса ингибиции при тестировании бактерицидных препаратов снимайте отметки всех макрополоний в диапазоне 1—3 мм от тест-полоски (см. **ИНСТРУКЦИЮ ПО УЧЕТУ РЕЗУЛЬТАТОВ ETEST**, рис. 21).
- При росте вдоль всей тест-полоски, т.е. отсутствии эллипса ингибиции, укажите МИК как \geq наивысшего значения шкалы МИК. Когда эллипс ингибиции не достигает полоски (не пересекается с тест-полоской), укажите, что МИК < наименьшего значения шкалы МИК.
- Такие микроорганизмы, как стафилококки, *Acinetobacter* spp., анаэробы и гонококки могут быть чувствительными к сульбактаму, тазобактаму и клавулановой кислоте в чистом виде. Для Etest PTc и Tlc это может привести к образованию эллипса ингибиции с вытянутыми параллельными полосами ингибиции вдоль полоски. Экстраполируйте верхнюю эллиптическую кривизну, направленную в сторону полоски, для получения МИК (см. **ИНСТРУКЦИЮ ПО УЧЕТУ РЕЗУЛЬТАТОВ ETEST**, рис. 15).
- Если эллипсы ингибиции для клиндамицина, эритромицина и хлорамфеникола у конечного показателя «падают», экстраполируйте значение МИК в месте начальной впадины, т.е. на 0,5—1 разведение выше пересечения.
- Для фосфомицина с многочисленными макрополониями (>5), видимыми в эллипсе ингибиции, следует принимать результат МИК при полном ингибиции. Несколько колоний (<5) можно в расчет не брать.
- Для хинупристина/дальфопристина и линезолида при наличии нечеткого и стелющегося роста стафилококков и энтерококков снимайте показания в месте 90 % ингибиции, определив эту точку невооруженным глазом. Изолированные макрополонии в эллипсе ингибиции следует считывать в месте полного ингибиции.
- Эллипс ингибиции ванкомицина может быть тонким. Снимайте показания в месте фактического пересечения с полоской, а не у скопления роста сбоку полоски.

Интерпретация

Для интерпретации значений МИК, полученных с помощью метода Etest, можно пользоваться пограничными значениями МИК для определения интерпретируемых категорий, опубликованных CLSI®, EUCAST, а также референсными группами, определенными для вашей страны.

Будучи полностью количественным методом определения МИК, Etest дает возможность лаборатории сообщить точные значения МИК вместе с интерпретируемой категорией. Etest определяет значения МИК с непрерывной шкалы и может показать результаты в промежуточном положении между традиционными двукратными разведениями, т.е. 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 категоризовать.

Пример: Пограничные значения МИК бензилпенициллина ($\mu\text{г}/\text{мл}$) для *Streptococcus pneumoniae*:

S	I	R
$\leq 0,06$	0,12—1	≥ 2

МИК 1 $\mu\text{г}/\text{мл}$ по методу Etest в отчете соответствует непосредственно первой концентрации (I), в то время как концентрация 1,5 округляется до 2 $\mu\text{г}/\text{мл}$ и категоризируется как резистентность (R).

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Для проверки действия реагентов Etest, качества питательной среды, посевного материала и используемой техники протестируйте соответствующие референсные штаммы для проведения контроля качества в соответствии с указаниями раздела **ПРОЦЕДУРА**. Реактивы и техника тестирования считаются удовлетворительными, если полученные значения МИК находятся в пределах спецификаций для контроля качества, приведенных в **ТАБЛИЦЕ 1**.

Результаты анализа пациента не следует сообщать, если результаты контрольного теста выходят за пределы утвержденных значений КК. Частота проведения тестирования на проверку контроля качества должна устанавливаться каждой лабораторией индивидуально. Инструкции приведены в документах M7, M11 и серии M100 Тестирования антимикробной чувствительности CLSI®.

Пределы значений для контроля качества метода Etest могут отличаться от спецификаций CLSI в некоторых случаях. Пределы значений для КК метода Etest основываются на обширной базе, собранной при контролльном тестировании большого числа серий реагентов в течение нескольких лет, и включают данные многоцентровых исследований. Смотрите спецификации для контроля качества в **ТАБЛИЦЕ 1**.

Если значения МИК для референтных штаммов для проведения контроля качества находятся на полразведении 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 полразведении выше верхнего предела КК, их следует считать несоответствующими КК.

Необходимо проводить регулярный подсчет колоний для проверки того, обеспечивается ли получение супензии посевного материала надлежащей плотности в КОЕ/мл жизнеспособных бактерий. Например, разведите супензию 1:1000 и повторно посейте 1 μl на рекомендованном агаре (см. таблицу 2). Пригодный материал для посева даст приблизительно от 100 до 500 колоний, т.е. 1—5 $\times 10^8$ КОЕ/мл.

Стандарты мутности по шкале МакФарланда не гарантируют правильное количество жизнеспособных бактерий в КОЕ/мл.

РАСЧЕТНЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Уровни чувствительности к антибиотикам для различных биологических популяций бактерий больше невозможno предсказать в связи с прогрессивным развитием резистентности. Таким образом, лаборатория должна пользоваться расчетными значениями МИК различных антибиотиков для референтных штаммов КК, чтобы подтвердить, что техника тестирования удовлетворяет требованиям, и что полученные клинические результаты достаточно верны.

РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Рабочие характеристики метода Etest для различных антибиотиков/микроорганизмов были установлены при помощи сравнительных исследований тестирований, проведенных в независимых клиниках и лаборатории самой компании. Эти исследования показали, что результаты МИК метода Etest коррелируют с результатами референтного метода разведений в агаре CLSI и/или микроразведений бульона, в зависимости от тестируемого микроорганизма. Метод Etest считается по существу эквивалентным методу CLSI, когда значения МИК от обоих методов показывают необходимое совпадение ($EA \geq 90\%$ в пределах ± 1 разведение). Технические характеристики продукции, рабочие характеристики, критерии интерпретации результатов и спецификации для контроля качества приведены в **ТАБЛИЦЕ 1**.

Референтная база данных Etest состоит из более чем 3000 научных эталонных величин, которые продемонстрировали существенное соответствие между методом Etest и референтным методом разведений МИК для широкого спектра групп микроорганизмов.

ВАЖНЫЕ ЗАМЕЧАНИЯ

- Показания к применению (данные измерений) для различных групп микроорганизмов в соответствии с определенными рекомендациями приведены в **ТАБЛИЦЕ 1**.
- Иногда некоторые комбинации бактерии и антибиотика дают неожиданные результаты. В таких случаях малоопытному персоналу будет сложно принять решение по конечному показателю МИК. Однако, чтобы научиться правильно определять конечные показатели МИК, сотрудники могут практиковаться, регулярно используя референсные штаммы и инструкцию по учету результатов Etest, и сравнивая свою работу с результатами квалифицированных работников.
- Доказано, что метод Etest, будучи основанным на применении агара, лучше всего коррелирует с референтным методом разведений в агаре. Корреляция наблюдается с референтным методом микроразведений бульона в случаях, когда нет ссылок на разведение в агаре.
- 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, который примет в расчет медицинский анамнез и все, что ему известно о пациенте, фармакокинетические и фармакодинамические свойства антибиотика и клинический опыт в лечении данным антибиотиком инфекций, вызванных конкретным бактериальным патогеном, дозу и режим дозирования.
- Для получения дополнительной информации о конкретных ограничениях в интерпретации результатов и/или ограничениях в использовании антибиотика в различных терапевтических ситуациях обращайтесь к таблицам и подстрочным примечаниям к стандартам для интерпретации МИК в последней версии документов CLSI AST для метода разведений (M7, M11 и серия M100) или рекомендациям EUCAST.

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Неиспользованные реагенты можно считать безопасными отходами и утилизировать их соответственно.

Утилизируйте неиспользованные реагенты и любые другие загрязненные одноразовые материалы в соответствии с процедурой для инфекционных и потенциально инфекционных материалов.

В ответственность лаборатории вмениается обращаться с отходами и сточными водами в соответствии с их природой и уровнем опасности и утилизировать их в соответствии с применимыми нормативами (или пользоваться услугами служб по утилизации отходов).

ССЫЛКИ

- Bolmström, A. et al. (1988). A Novel Technique for Direct Quantification of Antimicrobial Susceptibility of Microorganisms. ICAAC, poster 1209.
- Baker, C. N. et al. (1991). Comparison of the Etest to Agar Dilution, Broth Microdilution, and Agar Diffusion Susceptibility Testing Techniques by Using a Special Challenge Set of Bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*.
- Brown, D. F. J. and Brown, L. (1991). Evaluation of the Etest, a novel method of quantifying antimicrobial activity. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
- Jorgensen, J. H. et al. (1994). Detection of penicillin and extended spectrum cephalosporin resistance among *S. pneumoniae* clinical isolates using Etest. *Journal of Clinical Microbiology*.
- Citron D. M. et al. (1991). Evaluation of Etest for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Journal of Clinical Microbiology*.
- Sanchez M. et al. (1993). Etest, an antimicrobial susceptibility testing method with broad clinical and epidemiological application. *The Antimicrobial Newsletter*.
- Schulz J. E. et al. (1993). Reliability of the Etest for detection of ampicillin, vancomycin, and high-level aminoglycoside resistance in *Enterococcus* spp. *Journal of Clinical Microbiology*.
- Baker C. N. et al. (1994). Optimizing testing of methicillin resistant *Staphylococcus* spp. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.
- Tenover F. C. et al. (1996). Evaluation of commercial methods for determining antimicrobial susceptibility of *S. pneumoniae*. *Journal of Clinical Microbiology*.
- Rosenblatt J. E. et al. (1995). Evaluation of the Etest for susceptibility testing of anaerobic bacteria. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*.

Примечание:

Обширные справочные материалы на метод Etest, основанные на коллегиальной оценке, можно получить в PubMed (по интернету).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Class II Special Controls Guidance Document: Antimicrobial Susceptibility Test (AST) Systems; Guidance for Industry and FDA. August 2009.
- Lorian, V. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 5th Ed. 2005. Williams & Wilkins, USA.
- Murray, P.R. et al. *Manual of Clinical Microbiology*. 9th Ed. 2001. ASM Press.
- CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*. Approved Standard, M7-A (latest edition).
- CLSI. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests of Anaerobic Bacteria*. Approved Standard, M11-A (latest edition).
- CLSI Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100-S (latest edition).

ИНСТРУКЦИЯ ПО УЧЕТУ РЕЗУЛЬТАТОВ ETEST

РЕЗУЛЬТАТЫ, ВЫЗВАННЫЕ МИКРООРГАНИЗМОМ

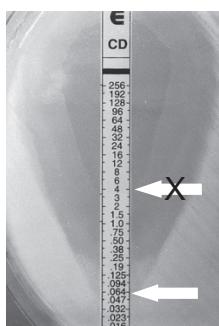


Рис. 7.
Пренебрегайте скоплением. МИК 0,064 µг/мл

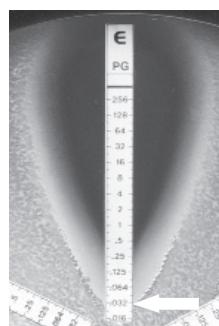


Рис. 8.
Пренебрегайте гемолизом; учитывайте подавление роста. МИК 0,032 µг/мл.

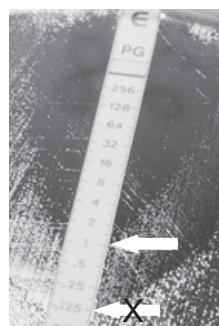


Рис. 9.
Наклоните чашку или воспользуйтесь лупой, чтобы точно определить колонии и помутнения, например, пневмококки, энтерококки, фузобактерии, *Stenotrophomonas* spp. МИК 1 µг/мл.

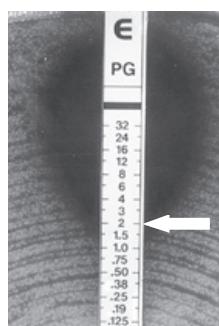


Рис. 10.
Изучите конечные показания β-лактамы для пневмококков на предмет зон помутнения и микроколоний. МИК 2 µг/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ, ВЫЗВАННЫЕ ПРЕПАРАТАМИ



Рис. 11.
Бактерицидные препараты дают точные конечные показатели МИК. МИК 0,064 µг/мл.

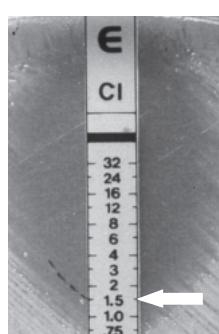


Рис. 12.
Бактерицидные препараты; следует считывать в месте полного ингибирования помутнений и микроколоний. МИК 1,5 µг/мл.

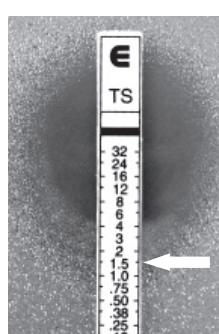


Рис. 13.
Бактериостатические препараты; снимайте показания в месте 80 % ингибирования. МИК 1,5 µг/мл.

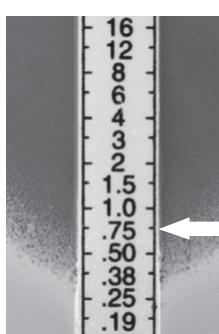


Рис. 14.
Линезолид; следует считывать в месте 90 % ингибирования (пренебрегайте мелкими помутнениями и точечными колониями). МИК 0,75 µг/мл.

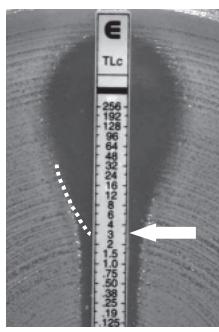


Рис. 15.
Ингибиторы β-лактамазы, например, тазобактам; экстраполируйте верхнюю эллиптическую кривизну, направленную в сторону полоски. МИК 3 µг/мл.



Рис. 16.
Трим/сульфа; считывайте в месте 80 % ингибирования (пренебрегайте сплошным помутнением внутри эллипса). *Stenotrophomonas* spp. МИК 0,19 µг/мл.

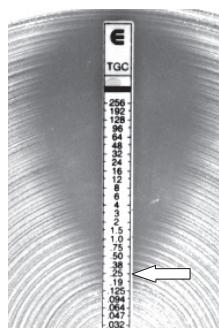


Рис. 17.
Тигециклин; следует считывать в месте 80 % ингибирования (пренебрегайте стелющимися микроколониями и помутнениями). МИК 0,25 µг/мл.



Рис. 18.
Полипептиды; при отсутствии колоний считывайте в нижней точке. МИК 0,38 µг/мл.

РЕЗУЛЬТАТЫ, ВЫЗВАННЫЕ МЕХАНИЗМОМ РЕЗИСТЕНЦИИ

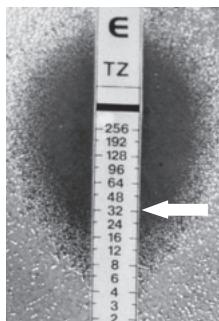


Рис. 19.
Варианты малых колоний и бактерицидные препараты; следует считывать в месте полного ингибиования. МИК 32 $\mu\text{г}/\text{мл}$.

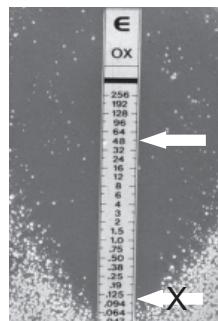


Рис. 20.
Изолированные колонии на оксациллин представляют собой гетерорезистентные субпопуляции, например, ORSA. МИК 48 $\mu\text{г}/\text{мл}$.

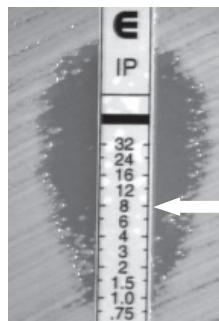


Рис. 21.
Изолированные колонии на карбапенемы могут представлять резистентные субпопуляции, например, KPC. МИК 8 $\mu\text{г}/\text{мл}$.

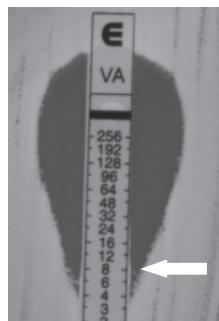


Рис. 22.
Стелющийся рост (помутнения, микроколонии, макроколонии) представляют VISA/hVISA. МИК 8 $\mu\text{г}/\text{мл}$.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ

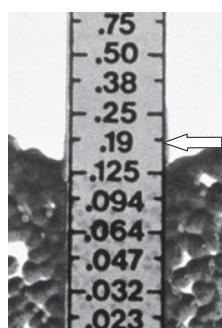


Рис. 23.
Пересечение между разметкой; отметьте значение выше.
МИК 0,19 $\mu\text{г}/\text{мл}$.

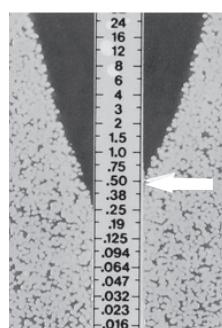


Рис. 24.
Неровное пересечение; отметьте значение выше.
Если >1 разведения, повторите тест.
МИК 0,5 $\mu\text{г}/\text{мл}$.

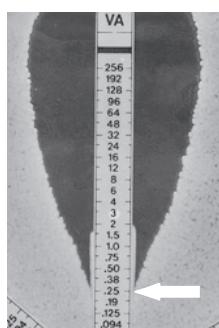


Рис. 25.
Пренебрегайте тонкой линией роста вдоль полоски.
МИК 0,25 $\mu\text{г}/\text{мл}$.

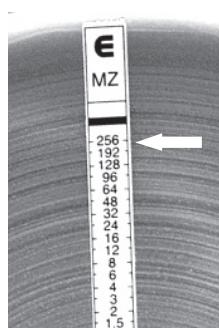


Рис. 26.
Сплошной рост вокруг полоски.
МИК $\geq 256 \mu\text{г}/\text{мл}$.

ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Символ	Значение
REF	Номер по каталогу
IVD	Для диагностики <i>in vitro</i>
	Произведено
	Температурные ограничения
	Верхняя температурная граница
	Использовать до
LOT	Номер партии
	Перед использованием прочтите инструкцию
	Содержимого достаточно для <n> тестов

BIOMERIEUX, логотип BIOMERIEUX, ETEST, тест-полоски ETEST с градиентом, NEMA C88, SIMPLEX C76, RETRO C80, VITEK и LYFOCULTS 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.

Другие названия и товарные знаки принадлежат их законным владельцам.

Фотографии: bioMérieux SA