

Souprava je určena pro stanovení citlivosti Gram-negativních bakterií ke kombinaci piperacillin/tazobactam na základě determinace MIC (minimální inhibiční koncentrace), tzn. nejnižší koncentrace, která zamezí viditelnému růstu bakterií. Obsahuje 36 stanovení.

Principem testu je rehydratace antibiotik v jamkách pomocí Mueller Hinton II bujónu s bakteriální suspenzí. Po 16–20 hodinové inkubaci jsou výsledky odečítány vizuálně.

Souprava obsahuje:

- 3 vyšetřovací desky
- 10 ks PE sáčků
- 1 skladovací sáček na uložení nespotřebovaných stripů

Skladování a exspirace soupravy:

Souprava je doporučeno při (+2 až +8) °C, exspirace je vyznačena na obalu. Po vyndání z chladničky destičky temperujte při pokojové teplotě minimálně po dobu 30 min. K zamezení kondenzace vody.

Po otevření hliníkového obalu a sejmíti folie nenechávejte již otevřené destičky bez ochrany. Vzdušná vlhkost ohrožuje funkčnost antibiotik!!!

Potřeby pro práci se soupravou, které nejsou součástí soupravy:

- Sterilní fyziologický roztok
- Mueller Hinton bujón II adjustovaný na kationty (např. suspenzní médium MIC kat. č. MLT00070)
- Sterilní zkumavky
- Sterilní vaničky 60 ml kat. č. 50004457
- Krokovací pipeta na 100 µl nebo multikanálová pipeta 100 µl
- Pipeta na 20–60 µl
- Přístroj na měření bakteriálního zákalu (např. DENSILAMETER II, kat. č. INS00062)
- Inkubátor 35±2°C
- Běžné laboratorní vybavení (kličky, popisovače, kahan, atd.)
- Program ErbaExpert

Upozornění: Souprava je určena pouze k profesionálnímu použití. Dodržujte zásady pro práci s infekčním materiélem!

Pracovní postup

Příprava bakteriální suspenze:

1) Připravte zkumavku s fyziologickým roztokem.

2) Z 18–24 hodinové kultury na krevním agaru setřete několik kolonií a připravte ve fyziologickém roztoku bakteriální suspenzi o hustotě 0,5 McFarland.

Je důležité věnovat speciální pozornost přípravě homogenní suspenze především u pseudomonád. Alternativně může být použita růstová metoda: 3–5 kolonií je přeneseno do zkumavky s vhodným bujonom a inkubováno až do pomnožení na denzitu 0,5 McFarland. Pokud je tato denzita překročena, je hustota suspenze upravena sterilním fyziologickým roztokem nebo bujonom na požadovaný zákal o hodnotě 0,5 McFarland.

3) Z bakteriální suspenze ve fyziologickém roztoku přeneste 60 µl do zkumavky s 13 ml suspenzního média MIC a dobře homogenizujte.

Inokulace:

Vyjměte destičku z aluminiového sáčku a sejměte folii ze stripu, např. odříznutím pomocí skalpelu nebo pravítka (těsně před inokulací). **Po otevření hliníkového obalu a sejmíti folie nenechávejte již otevřené destičky bez ochrany. Vzdušná vlhkost ohrožuje funkčnost antibiotik!!!** Nepoužité stripы uložte do uzavíratelného skladovacího sáčku se sušidlem a skladujte maximálně po dobu 4 týdnů v 2–8°C.

Zaznamenejte číslo vyšetřované kultury na příslušný strip a vložte do volného rámečku. Rozplňte suspenzní médium s inokulem po 100 µl do každé jamky stripu.

Pozn.: Stripы zpracujte do 60 minut po vyjmnutí ze sáčku.

Inkubace:

Nainokulovaný strip vložte v rámečku do PE sáčku, jehož okraje zahnete pod rámeček tak, aby nedocházelo k vysychání inokula.

Destičku vložte do termostatu 35±2°C na 16–20 hod.

Vyhodnocení:

Destičku vyjměte z PE sáčku. Pro odečítání nárůstu v jamkách zvolte způsob, který je pro Vás nejoptimálnější:

- 1) Odečítejte proti šedému pozadí nebo proti tabulce destičky v návodu.
- 2) Odečítejte proti přirozenému nebo umělému rozptýlenému světelnému zdroji.

Prosím věnujte pozornost:

V jamce s kontrolou růstu (jamka v řadě H) musíte vidět nárůst! Jestliže nárůst není, test NELZE HODNOTIT! Jako MIC je hodnocena jamka s nejnižší koncentrací antibiotika, která zamezí okem viditelnému růstu bakterií. Odlište zrnění od případných bublin! Výsledky zaznamenejte.

Tab. 1: Rozložení piperacilin/tazobaktamu a jeho koncentrační řada na destičce v mg/l

A	PIT 128											
B	PIT 64											
C	PIT 32											
D	PIT 16											
E	PIT 8											
F	PIT 4											
G	PIT 2											
H	Kontr. růstu											
	Piperacillin/ Tazo- baktam											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Interpretace:

V závislosti na národních nebo laboratorních standardech je nutné použít aktuální interpretační tabulky EUCAST (1), CLSI M100 (2) nebo další interpretační kritéria, např. EUCAST Expert Rules (3) nebo CLSI M07 (4). Při interpretaci výsledků je třeba zohlednit druhovou identifikaci kmene, původ vzorku, anamnézu pacienta, případně výsledky doplňujících testů.

Pro vyhodnocení je také možné použít program ErbaExpert.

Kontrola kvality:

Pro kontrolu kvality doporučujeme používat všechny níže uvedené kontrolní kmény. Při hodnocení výsledků testování se řídíte aktuálním standardem EUCAST nebo CLSI. Pro kontrolu je nutné používat čerstvé, nepasážované kmény.

CCM 3954 (ATCC 25922) <i>Escherichia coli</i> MIC (mg/l)	CCM 3955 (ATCC 27853) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> MIC (mg/l)	CCM 4225 (ATCC 35218) <i>Escherichia coli</i> MIC (mg/l)	CCM 4987 (ATCC 700603) <i>Klebsiella pneumoniae</i> MIC (mg/l)
PIT 1/4–8/4	PIT 1/4–8/4	PIT 0,5/4–2/4	PIT 8–32

ATCC – American Type Culture Collection

CCM – Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta, Kamenice 5, budova A25, 625 00 Brno, tel.: 549 491 430, fax: 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz.

Ochrana zdraví:

Komponenty soupravy nejsou klasifikovány jako nebezpečné.

Likvidace použitého materiálu:

Po použití vložte destičku do nádoby pro infekční materiál a likvidujte dle vlastních interních předpisů, autoklávujte nebo zničete spálením. Prázdné papírové obaly se předají do sběru k recyklaci.

Literatura:

- 1) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MIC and zone diameters, <http://www.eucast.org>.
- 2) CLSI: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI dokument M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- 3) EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing, <http://www.eucast.org>.
- 4) CLSI: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. CLSI dokument M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Datum revize: 25. 2. 2025

POUŽITÉ SYMBOLY

 Katalogové číslo

 In vitro Diagnostikum

 Výrobce

 Čtěte návod k použití

 Číslo šarže

 Teplota skladování

 Datum expirace

 Obsah postačuje pro <n> testů

The kit is designed to test susceptibility of Gram-negative bacteria to piperacillin/tazobactam on the basis of MIC (minimal inhibitory concentration) determination, i.e. the lowest concentration, which inhibits bacterial growth. The kit contains 36 examinations.

The test is based on rehydration of antibiotics in the wells with Mueller Hinton II broth and bacterial suspension. The results are read visually after 16-20 hours of incubation.

The kit contains:

- 3 plates for examination (36 strips)
- 10 pc of PE bags
- 1 pc of storage bag (for unused strips)

Storage and expiration of the kit:

It is recommended to store the kit at (+2 to +8) °C. The date of expiration is indicated on each package. Leave plate at room temperature for at least 30 minutes before you open it to avoid water condensation.

After the aluminium package is opened and covering foil is removed, don't leave opened plates unprotected!!! Exposition to air humidity leads to antibiotic activity failure!!!

Material required to perform a test, not included in the kit:

- Sterile physiological solution
- Muller Hinton broth II cations adjusted (e.g. Suspension medium MIC, Cat.No. MLT00070)
- Sterile tubes
- Sterile basins 60 ml Cat. No. 50004457
- A stepper or multichannel pipette for dosage of 100 µl
- A pipette for dosage of 20–60 µl
- Instrument to measure optical density of bacterial inoculum (e.g. DENSILAMETER II, Cat. No. INS00062)
- Incubator 35±2 °C
- Regular microbiological laboratory equipment (loops, marker, burner, etc.)
- ErbaExpert Program

Caution: The kit is for professional use only! Respect the rules for work with infectious material!

Instructions for Use

Preparation of bacterial suspension (recommended procedure):

- 1) Prepare a tube with physiological solution.
- 2) Remove few colonies from 18–24 hour culture on blood agar and prepare a bacterial suspension of density of 0.5 on McFarland scale in physiological solution. It is important to pay special attention to the preparation of homogeneous slurry especially in *Pseudomonas*. Alternatively, a growth method: 3-5 colonies is transferred to a test tube with suitable broth and incubated to propagate to a density of 0.5 McFarland. If this density is exceeded, the suspension density adjusted sterile saline or broth to the desired value of turbidity of 0.5 McFarland.
- 3) Inoculate 60 µl of bacterial suspension into a tube with 13 ml of Suspension medium MIC and homogenise well.

Inoculation:

Remove a plate from aluminium bag and remove aluminium cover from a strip, e.g. use a scalpel or a ruler (just before inoculation). **Don't leave opened plates unprotected!!! Exposition to open air leads to antibiotic activity failure!!!** Insert any unused strips into a ZIP log storage bag. Transfer a dessicant sachet from the original package into a storage bag as well and close it for later use. Store it at 2–8°C for 4 weeks maximum.

Record number of the examined strain on the strip and insert it into a free frame. Inoculate 100 µl of suspension medium with bacterial inoculum into each well of the strip. Note: Process the strips within 60 minutes after removing it from aluminium bag.

Incubation:

Insert the inoculated strip in a frame into a PE bag. Fold the open end of the bag under the plate to prevent evaporation during the incubation. Incubate the plate at 35±2 °C for 16–20 hours.

Evaluation:

Remove the plate from the PE bag. To read the growth in the microwells, choose a way which is the most convenient for you:

- 1) Read against a grey background or against plate layout in the instructions.
- 2) Read against natural or artificial dispersed light.

Please read with attention:

You must see a growth in the control well (placed in row H)! If the growth is not present, the test MUST NOT be evaluated! The MIC is the lowest concentration of antibiotic in a well where no visible growth of the organism is observed. Beware to differentiate grains of growth from media bubbles. Record the results.

Tab. 1: Plate layout: piperacillin/tazobactam dilution series (in mg/l)

A	PIT 128	PIT 128									
B	PIT 64	PIT 64									
C	PIT 32	PIT 32									
D	PIT 16	PIT 16									
E	PIT 8	PIT 8									
F	PIT 4	PIT 4									
G	PIT 2	PIT 2									
H	Growth control	Growth control									
	Piperacillin/ Tazo- bactam 1	Piperacillin/ Tazo- bactam 2	Piperacillin/ Tazo- bactam 3	Piperacillin/ Tazo- bactam 4	Piperacillin/ Tazo- bactam 5	Piperacillin/ Tazo- bactam 6	Piperacillin/ Tazo- bactam 7	Piperacillin/ Tazo- bactam 8	Piperacillin/ Tazo- bactam 9	Piperacillin/ Tazo- bactam 10	Piperacillin/ Tazo- bactam 11
											Piperacillin/ Tazo- bactam 12

Interpretation:

Depending on national or laboratory standards, current interpretation tables by EUCAST (1), CLSI M100 (2) or other interpretation criteria, such as EUCAST Expert Rules (3) or CLSI M07 (4), should be used. It is necessary to take following parameters into consideration when interpreting results: species identification, sample origin, patient case history, or results of additional tests.

The ErbaExpert program can also be used for evaluation.

Quality control:

We recommended all following control strains for internal testing of functionality of the antibiotics in the laboratory. Follow EUCAST or CLSI standards when evaluating results. Fresh strains must be used for quality control.

CCM 3954 (ATCC 25922) <i>Escherichia coli</i> MIC (mg/l)	CCM 3955 (ATCC 27853) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> MIC (mg/l)	CCM 4225 (ATCC 35218) <i>Escherichia coli</i> MIC (mg/l)	CCM 4987 (ATCC 700603) <i>Klebsiella pneumoniae</i> MIC (mg/l)
PIT 1/4–8/4	PIT 1/4–8/4	PIT 0.5/4–2/4	PIT 8–32

ATCC – American Type Culture Collection

CCM – Czech Collection of Microorganisms, Masaryk University, Faculty of Science, Kamenice 5, building A25, 625 00 Brno, tel.: 549 491 430, fax: 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz.

Health protection:

Components of the kit are not classified as dangerous.

Disposal of the used material:

Insert the used plate into the vessel intended for the infectious material and autoclave or destroy it by incineration.

Literature:

- 1) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MIC and zone diameters, <http://www.eucast.org>.
- 2) CLSI: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. CLSI dokument M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- 3) EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing; <http://www.eucast.org>.
- 4) CLSI: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. CLSI dokument M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2015

Date of revision: 25. 2. 2025

USED SYMBOLS

REF Catalogue Number

IVD In Vitro Diagnostics

 Manufacturer

 See Instruction for Use

LOT Lot Number

 Storage Temperature

 Expiry Date

 Content is sufficient for <n> tests

Набор реагентов для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам MIKROLATEST «МПК Пиперациллин/тазобактам»

Кат. No.: MLT00065

Для микробиологии

Наименование медицинского изделия

Набор предназначен для определения чувствительности грамотрицательных бактерий к пиперациллину/тазобактам на основе определения МПК (минимальной ингибитирующей концентрации), т.е. самой низкой концентрации антибиотика, которая подавляет рост бактерий. Набор рассчитан на 36 исследований. Тест основан на регидратации антибиотиков в лунках с бульоном Мюллера Хинтона II и бактериальной суспензией. Результаты считаются визуально через 16–20 часов инкубации.

Производитель

Erba Lachema s.r.o. (Эрба Лахема с.р.о.)
Адрес: Karasek 2219/1d, 62100 Brno, Czech Republic (Карасек 2219/1д, 62100 г. Брно, Чешская Республика)
Тел.: +420 517 077 111, diagnostics@erba.com

Уполномоченный представитель производителя в РФ

Акционерное общество «ЭРБА РУС» (АО «ЭРБА РУС»)
Адрес: 109029, г. Москва, ул. Нижегородская, д.32 стр. 15, эт. 5, пом. 1, ком. 35А, 37, 38, 39
Тел./факс: +7 (495) 755-78-81, 755-78-92, sale@erba.com

Назначение и принцип действия медицинского изделия

Набор реагентов для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам MIKROLATEST предназначен для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам на основе определения МПК (минимальной подавляющей концентрации), то есть наименьшей концентрации, которая ингибирует рост микроорганизмов.

Показания:

- Исследование чувствительности микроорганизмов, выделенных из клинических образцов, к антибиотикам.

Противопоказания:

- Не выявлены.

Область применения (функциональное назначение):

- Лабораторная *in vitro* диагностика.

Потенциальные потребители медицинского изделия:

- Квалифицированный персонал микробиологических и бактериологических лабораторий.

С помощью варианта исполнения Набора реагентов для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам MIKROLATEST «МПК Пиперациллин/тазобактам» определяется чувствительность грамотрицательных бактерий к пиперациллину/тазобактам на основе определения МПК, то есть наименьшей концентрации, которая предотвращает видимый рост бактерий. Комплект содержит 36 стрипов. Принцип анализа заключается в регидратации антибиотиков в лунках с использованием бульона Мюллера Хинтона II с бактериальной суспензией. После 16–20-часовой инкубации результаты считаются визуально. В

В комплект входят:

- Планшет с 12 стрипами – 3 шт.
- Пакет полиэтиленовый – 10 шт.
- Мешок для хранения неиспользуемых стрипов – 1 шт.
- Инструкция по применению – 1 шт.

Хранение и срок годности набора:

Рекомендуется хранить набор (от +2 до +8) °C. Дата истечения срока годности указывается на каждой упаковке. Рекомендуется оставить планшет перед работой при комнатной температуре не менее чем на 30 минут до вскрытия упаковки, чтобы избежать образования конденсата.

После того, как алюминиевая упаковка будет открыта и будет снята покрывающая пленка, не оставлять открытые планшеты!!! Влажность воздуха снижает активность антибиотиков!!!

Материалы, необходимые для проведения теста, которые не входят в комплект:

- Стерильный физиологический раствор
- Бульон Мюллера-Хинтона II с заданным катионным составом (например, суспензионная среда MIC кат. No MLT00070)
- Стерильные пробирки
- Стерильные ванночки 60 мл для пипетирования кат. No. 50004457
- Пошаговый многоканальный дозатор для дозировки 100 мкл
- Пипетка для дозировки 20–60 мкл
- Прибор для измерения оптической плотности бактериального инокулята (например, DENSILAMETER II, № по каталогу INS00062)
- Инкубатор 35 ± 2 °C
- Микробиологическое лабораторное оснащение (петли, маркер, горелка и т. д.)
- ErbaExpert Программа

Внимание: набор предназначен только для профессионального использования! Соблюдайте правила работы с инфекционным материалом!

Инструкция по применению

Подготовка бактериальной суспензии (рекомендуемая процедура):

- 1) Подготовить пробирку с физиологическим раствором.
- 2) Взять несколько колоний с 18–24-часовой культурой на кровяном агаре и приготовить бактериальную суспензию мутностью 0,5 по шкале МакФарланда в физиологическом растворе. При приготовлении инокулята *Pseudomonas* spp необходимо уделять дополнительное внимание достижению однородной суспензии 0,5 по стандарту МакФарланда. В качестве альтернативы можно использовать метод выращивания: 3-5 колоний переносят в пробирку с подходящим бульоном и инкубируют до достижения или превышения мутности 0,5 по стандарту МакФарланда. Мутность культуры доводят стерильным физиологическим раствором или бульоном до 0,5 по стандарту МакФарланда.
- 3) Инокулировать 60 мкл бактериальной суспензии в пробирку с 13 мл суспензионной среды MIC. Хорошо гомогенизировать суспензию.

Инокуляция в планшет:

Снять алюминиевую пленку с планшета, можно использовать скальпель (непосредственно перед инокуляцией). Не оставлять открытые планшеты незащищенными!!! Влажность воздуха снижает активность антибиотиков!!! Неиспользуемые стрипы поместить в пакет для хранения. Поместить пакет с силикагелем в пакет для хранения и закрыть его для последующего использования. Хранить при температуре 2–8 °C максимум 4 недели. Записать номер исследуемого штамма на стрипе и вставить стрип в свободную рамку. Инокулировать 100 мкл суспензионной среды с бактериальным инокулятом в каждую лунку стрипа.

Примечание: использовать стрипы в течение 60 минут после удаления из алюминиевой упаковки.

Инкубация:

Вставить инокулированный стрип в рамку и затем в полиэтиленовый пакет. Завернуть открытый конец пакета под планшет, чтобы предотвратить испарение во время инкубации. Инкубировать планшет при 35 ± 2 °C в течение 16–20 часов.

Оценка:

Достать планшет из полиэтиленового пакета. Зафиксировать рост в микролунках одним из приведенных ниже способов:

- 1) Просмотреть планшет на сером фоне или по таблице в инструкции.
- 2) Просмотреть в естественном или искусственном рассеянном свете.

При считывании результата необходимо обратить внимание:

Перед оценкой результата необходимо зафиксировать рост в лунке с контролем роста (ряд H)! Если роста нет, тест НЕ ДОЛЖЕН быть оценен! МПК (MIC) - самая низкая концентрация антибиотика в лунке, где не наблюдается видимый рост. Не путать рост с пузырьками воздуха в среде. Записать результаты.

Таб. 1: Схема планшета: серийные разведения пиперациллина/тазобактама (мг/л)

A	PIT 128										
B	PIT 64										
C	PIT 32										
D	PIT 16										
E	PIT 8										
F	PIT 4										
G	PIT 2										
H	Контр. роста										
	Piperacillin/ Tazo- baktam										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
											12

Интерпретация:

В зависимости от национальных или лабораторных стандартов, следует использовать текущие таблицы интерпретаций от EUCAST (1), CLSI M100 (2) или другие критерии интерпретации, такие как Правила экспертов EUCAST (3) или CLSI M07 (4). При интерпретации результатов необходимо учитывать следующие параметры: идентификация вида, происхождение образца, история болезни пациента или результаты дополнительных тестов. Еще одним вариантом оценки является использование экспертной системы в программе ErbaExpert.

Контроль качества:

Рекомендуются следующие контрольные штаммы для внутреннего тестирования функциональности антибиотиков в лаборатории. При оценке результатов необходимо следовать стандартам EUCAST или CLSI.

CCM 3954 (ATCC 25922) <i>Escherichia coli</i> МПК (мг/л)	CCM 3955 (ATCC 27853) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> МПК (мг/л)	CCM 4225 (ATCC 35218) <i>Escherichia coli</i> МПК (мг/л)	CCM 4987 (ATCC 700603) <i>Klebsiella pneumoniae</i> МПК (мг/л)
PIT 1/4–8/4	PIT 1/4–8/4	PIT 0,5/4–2/4	PIT 8–32

ATCC – Американская коллекция типовых культур

CCM – Чешская коллекция микроорганизмов, Университет Масарика, факультет естественных наук, помещение 5, корпус A25, 625 00 Брно, тел. 549 491 430, факс 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: ccm@sci.muni.cz.

Охрана здоровья:

Компоненты набора не классифицируются как опасные.

Утилизация использованного материала: Использованный планшет утилизировать путем автоклавирования.

Литература:

- 1) Европейский комитет по тестированию на противомикробную восприимчивость. Таблицы контрольных точек для интерпретации MIC и диапазонов зон, <http://www.eucast.org>.
- 2) CLSI: Стандарты эффективности для тестирования противомикробной восприимчивости; CLSI документация M100. Уэйн: Институт клинических и лабораторных стандартов.
- 3) Экспертные правила EUCAST при тестировании антимикробной чувствительности, <http://www.eucast.org>.
- 4) CLSI: Методы разведений для анализа антимикробной чувствительности бактерий, растущих в аэробных условиях. Документ CLSI M07. Уэйн: Институт клинических и лабораторных стандартов.

Артикул	Наименование как в РУ	Номер РУ	Дата выдачи РУ
MLT00065	Набор реагентов для определения чувствительности микроорганизмов к антибиотикам MIKROLATEST «МПК Пиперациллин/тазобактам»	РЗН 2020/11345	от 17 июля 2020 года

Дата пересмотра: 25. 2. 2025

ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ

REF Каталожный номер

IVD Ин витро диагностика

 Производитель

 Перед использованием внимательно изучайте инструкцию

LOT Номер партии

 Температура хранения

 Срок годности

 Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов