

## RAPID POLYMYXIN NP

Detekcija osjetljivosti i otpornosti  
enterobakterija na polimiksine (kolonije i hemokulture)  
**10 testova** (REF 23000)



CPB 0405-HR-2018-02

Samo za *in vitro* dijagnostiku, isključivo za profesionalnu uporabu. Testovi su samo za jednokratnu uporabu.

### I - CILJ

Test Rapid Polymyxin NP omogućuje detekciju osjetljivosti i otpornosti enterobakterija na polimiksine (polimiksin E ili kolistin i polimiksin B) iz kulture bakterija na mediju agar ili pozitivne krvne kulture.

### 2 - ZNAČENJE

Razvoj više rezistentnih bakterija u nekoliko obitelji antibiotika (tzv. Više otpornih bakterija ili BMR) predstavlja javni zdravstveni izazov dramatično smanjenjem mogućnosti liječenja i povećanjem stope smrtnosti u jedinicama intenzivne skrbi. Među BMR-om, enterobakterije (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* ili druge vrste) predstavljaju glavni izvor infekcija BMR s gram-negativnim bacilima. Oni su odgovorni za većinu zajednica (mokraćne, plućne, intra-abdominalne, krvne) i nozokomijske infekcije. Osim toga, njihova stečena otpornost na  $\beta$ -laktame (penicilini, cefalosporini, monobaktam) i prošireni spektar aminoglikozida i kinolona sve je više prisutna diljem svijeta.

Ovaj razvoj bakterija BMR oživio je zanimanje za staru klasu antibiotika, polimiksine (polimiksin E ili kolistin i polimiksin B), koji se općenito smatraju molekulama posljednjeg mjesta.

Međutim, sve veća upotreba kolistina sada dovodi do pojave i množenja novih sojeva Enterobakterija koji su više otporni na kolistin i karbapeneme i predstavlja novu prijetnju trajnosti terapijskog arsenala Kontrola terapijskih propusta i kontrola zaraznih rizika u kliničkim kontekstima zahtijevaju bržu procjenu osjetljivosti i otpornosti bakterijskih sojeva na kolistin.

Metode koje su trenutno dostupne za određivanje osjetljivosti ili otpornosti kolistina nisu prilagođene kliničkim i bolničkim potrebama. Smatraju se dosadnim, dugim (24 sata, MIC u tekućem mediju) ili nepouzdanim kao u slučaju metoda difuzije agara.

Pokus Rapid Polymyxin NP omogućuje definiranje otpornosti enterobakterija na kolistin u manje od 3 sata na osjetljiv i specifičan način. Ovaj test je brz, jednostavan za korištenje, jednostavan za čitanje i pogodan za sve laboratorije. Koristi tekuću metodu za otkrivanje svih fenotipskih otpora, što omogućuje neposredno uvođenje odgovarajuće antibiotske terapije ili identifikaciju subjekata s sojevima otpornih na kolistin kako bi se ograničio rizik od epidemijskog širenja.

### 3 - NAČELO

Test Rapid Polymyxin NP temelji se na načelu koje su opisali Nordmann, Jayol i Poirel (1-2-3).

Ova tekuća metoda se oslanja na kolorimetrijsku detekciju brzog metabolizma glukoze koji je povezan s rastom bakterija, i to u prisutnosti određene koncentracije kolistina.

Zakiseljavanje medija kulture zbog ovog rasta vizualiziran je promjenom boje od narančaste do žute boje pH-indikatora (fenol crvena).

### 4 - REAGENSI

Opis	Količina
<b>RP NaCl</b> : Bočica zapremine 3 mL ispunjena tekućim sadržajem koji uključuje 0,85 g/L NaCl za pripremu inokuluma	12
<b>RP Medium</b> : 1,5 mL ampule kulture medija za enterobakterije, bazirano na mulju Mueller-Hinton (25 g / L) prilagođenim kationima, glukozi na 10 g / L i fenol crvene boje (50 mg / L) kao pH indikator 10	10
<b>Galerije RP galerije colistine</b> : Komplet uključuje jednu jažicu negativne kontrole C-, jednu testnu jažicu kolistina u koncentraciji od 2 $\mu$ g/mL i jednu jažicu kontrole rasta bakterija C+. Pakirano u aluminijskoj vrećici s integriranom sušilicom.	10
<b>RP TC (Turbidity Control)</b> : Bočica zapremine 3 mL ispunjena otopinom barijeva sulfata kao kontrolom zamućenosti	1
<b>Closing System</b> : Zaštitni pokrov inokulirane zbirke pakiran u prozirnem plastičnom ovitku	10

### 5 - MJERE OPREZA PRI UPORABI

Reagensi u ovom kompletu su samo za *in vitro* dijagnostičku uporabu i trebaju ih obavljati ovlaštene osobe.

Uzorci, bakterijske kulture i nasadni reagensi potencijalno su zarazni, moraju se postupati uobičajenim mjerama opreza u skladu s pravilima higijene i propisima koji su na snazi u zemlji uporabe za ovu vrstu proizvoda.

Preporučuje se uporaba mikrobiološke sigurnosne postaje (PSM).

Nemojte koristiti reagente nakon isteka roka valjanosti.

Reagensi se trebaju čuvati na temperaturama između +2 i +8°C.

Prije upotrebe nemojte koristiti oštećene ili loše pohranjene reagente.

Nemojte koristiti SR srednje bočice koje pokazuju znakove propuštanja.

Rezultati dobiveni testom Rapid Polymyxin NP odražavaju osjetljivost ili otpornost na kolistin sojeva enterobakterija prisutnih u uzorku, ali se ne mogu upotrijebiti sama za kliničku dijagnozu. To mora učiniti liječnik na temelju bioloških rezultata i kliničkih znakova.

### 6 - PRIKUPLJANJE UZORAKA

Mikroorganizme koji će se testirati treba preferencijalno izolirati na neutralnim medijima kulture tipa Luria Bertani, Mueller Hinton, Columbia agaru s 5% krvi ovaca, čokoladnom agaru PolyVitek, agaru Eosin Methylene Blue ili kromogenim agarima. S popisa ovih medija izuzeti su, primjerice, agari tipa Drigalski. Testiranje treba biti izvedeno iz nedavno dobivenih kolonija (15 sati pri inkubaciji u trajanju 24 sata). Enterobakterije iz krvnih uzoraka se mogu testirati izravno iz monomikrobnih krvnih kultura inkubiranih aerobnom ili anaerobnom razgradnjom

### 7. PRIPREMA I SKLADIŠTENJE REAGENSA

Svi dobiveni reagensi su spremni za upotrebu. Komplet i reagensi pohranjeni na +2 +8°C u originalnoj ambalaži su stabilni do datuma isteka navedenog u kompletu.

Reagensi RP Medium i RP NaCl su samo za jednu uporabu.

Ako se RP TC reagens koristi za kalibraciju inokuluma iz izoliranih kolonija, ona se mora pohraniti do korištenja posljednjeg reagensa RP Medium u kompletu.

RP TC reagent treba čuvati na +2 +8°C i zaštićen od svjetlosti.

### 8 - REAGENS I POTREBNI MATERIJALI KOJI SE NE ISPORUČUJU ZAJEDNO S KOMPLETOM

Spremnici za kontaminirani otpad

Denzitometra

Pipeta i tuljci

Grijalica osposobljena za rad na temperaturi od +36°C+/-2°C

### 9 - OPERATIVNI POSTUPAK

#### 9.1 TESTIRANJE KOLONIJA IZOLIRANIH NA MEDIJU AGARA

Fenotip negativne bakterije GRAM mora se potvrditi obavljanjem GRAM bojanja.

Test treba izvoditi samo iz kolonija identificiranih kao Enterobakterija i isključujući, između ostalog, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*.

Dovesti reagente na sobnu temperaturu 10 minuta. Prethodno inkubirajte RP medij 10 minuta na 37°C.

Izvadite ljepljivo koje pokriva donji dio galerije (bunare 1, 2 i 3).

#### • Priprema negativne kontrole:

Distribucija u jažici C-1:

-75  $\mu$ L RP medija nije inokulirano

-25  $\mu$ L bez sjemena RP NaCl

#### • Priprema bakterijske suspenzije u bočici RP NaCl:

Probijte tri do četiri identične izolirane kolonije pomoću 10  $\mu$ l oese ili začepljene Pasteurove pipete.

Ispuna u bocu RP NaCl i dobro promiješati.

#### • Standardizacija inokuluma:

Preporuča se standardizirati inokulum pomoću denzitometra. Međutim, boca RP TC dostupna je pod uvjetima dobre prakse korisnika (vidi odlomak boca RP TC).

#### - Korištenje denzitometra

Pomoću denzitometra provjerite je li zamućenje medijskog medija između 3 i 3,5 Mac Farland (McF). Najniža vrijednost dobivena okretanjem boce u uređaju treba uzeti u obzir.

Ako je Mc F manji od 3 (nedovoljni inokulum), nanesite bocu dok se ne dobije McF između 3 i 3,5. Ako je Mc F veći od 3,5 (previše bogat inokulum), razrijedite s novom bočicom RP NaCl sve dok neprozirnost nije točna. U ovu su svrhu uključene dvije dodatne boce za RP NaCl i moraju se baciti nakon upotrebe.

U slučaju nespojivosti između isporučene boca RP NaCl i denzitometra, preporuča se:

- prenesite sadržaj u cijev koja je kompatibilna s uređajem,

- dobiti vrijednost na 0 McF,

- zatim dodajte kolonije dok ne dobijete McF na 3-3.5.

- U usporedbi s bocom RP TC

Ova metoda vizualnog čitanja može biti subjektivna i zahtijeva

#### - U usporedbi s bočicom RP TC

Ova metoda vizualnog očitavanja može biti subjektivna i zahtijeva dobru laboratorijsku praksu kako bi se osigurala pouzdanost dobivanja vrijednosti McF od 3-3,5 u inokuliranoj bočici RP NaCl.

Da bi se zajamčilo postizanje očekivane optičke gustoće bočice RP NaCl u usporedbi sa zamućenjem isporučene bočice RP TC, potrebno je potvrditi postupak za dobivanje odgovarajućeg zamućenja inokuluma.

## Metodologija:

Podesite neprozirnost inokuliranog medija na vrijednost neprozirnosti kontrole zamućenja  
RP TC koristeći crne oznake na etiketi bočice. Ako je potrebno podesiti vrijednost zamućenja, postupite na način kao što je prethodno navedeno.

### Priprema inokuluma u RP mediju i doziranje u zbirku :

-Prenesite 500 µL inokuliranog medija RP NaCl u bočicu RP Medium.  
-Dobro homogenizirajte i dozirajte inokulirani RP Medium :  
-100 µL u testnu jažicu br. 2 (koja sadrži kolistin)  
-100 µL u jažicu br. 3 kontrole rasta bakterije C+ (bez kolistina)

Pokrijte komplet uključivanjem poklopca "closing system".  
Identificirajte zbirku pomoću referenci testiranog uzorka.  
Inkubirajte zbirku na +36°C +/- 2°C 3 do 3 sata.

Prvo promatranje treba provesti nakon 2 sata inkubacije (vidi uvjete očitavanja i interpretacije rezultata navedene u poglavlju 10 – "Čitanje i interpretacija").

## 9.2 TESTIRANJE IZ MJEŠAVINE POZITIVNE KRVNE KULTURE

Testiranje se mora provesti isključivo iz pozitivne monomikrobne krvne kulture koja sadrži enterobakterije (i isključujući, osobito, *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*) identificirane postupkom masene spektrometrije MALDI TOF.

Ostavite reagense na sobnoj temperaturi (+18 +25°C) 10 minuta.  
Prethodno inkubirajte medij RP 10 minuta na temperaturi 37°C.  
Uklonite samoljepljivu traku koja prekriva donji dio zbirke (jažice 1, 2 i 3).

### Priprema negativne kontrole:

Doziranje u jažicu C- br. 1:  
75 µL neinokuliranog medija RP  
Medium - 25 µL neinokuliranog medija  
RP NaCl

### Priprema bakterijske suspenzije u bočici NaCl RP :

Prenesite 300 µL pozitivne monomikrobne krvne kulture u bočicu RP NaCl  
Dobro promiješajte

### Priprema inokuluma u RP mediju i doziranje u zbirku :

Prenesite 500 µL inokuliranog medija RP NaCl u bočicu medija RP I.  
Dobro homogenizirajte i dozirajte inokulirani medij RP :  
- 100 µL u testnu jažicu br. 2 (koja sadrži kolistin)  
100 µL u jažicu br. 3 kontrole rasta bakterija C+ (bez kolistina)

Pokrijte komplet uključivanjem poklopca "closing system". Identificirajte zbirku pomoću testiranog uzorka.

Inkubirajte zbirku na +36 +/- 2 °C **2 do 4 sata**. Prvo promatranje može se provesti nakon 2 sata inkubacije (vidi uvjete očitavanja rezultata navedene u poglavlju 10 – "Čitanje i interpretacija").

## 10 - ČITANJE I INTERPRETACIJA

Očitanje rezultata temelji se na identifikaciji i usporedbi boje ispitne jažice s bojom jažica C + i C-.

### Negativna kontrola očitavanja (jažica negativne kontrole C- br. 1) :

Jažica negativne kontrole br. 1 (C-) predstavlja početnu (narančastu) boju medija. Procjena promjene boje testne jažice se vrši u odnosu na ovu kontrolu.

Ako je jažica C- obojena žuto, nevažeca je. U tom slučaju nemojte interpretirati rezultat i ponovite test.

### Validacija (jažica pozitivne kontrole C+ br. 3) :

Provjerite je li medij koji odgovara kontroli rasta bakterija (C+) postao žut.

### Očitavanje i interpretacija testne jažice br. 2 :

Promjena boje medija iz prvotno narančaste, žuto-narančaste ili žute upućuje na sposobnost soja da se razvije pri koncentraciji kolistina od 2 µg /mL.

S druge strane, odsutnost promjene boje medija znači da je razvoj soja inhibiran pri koncentraciji kolistina od 2 µg/mL.

### • Inokulum iz izoliranih kolonija

Prvo promatranje izvršite nakon 2 sata inkubacije.

Ako je jažica pozitivne kontrole C+ (jažica br. 3, kontrola rasta bakterija) promijenila boju u žutu, izvršite očitavanje testne jažice (jažica br. 2) :

**1/** ako je TESTNA jažica obojena žuto (ili žuto-narančasto) i boje svjetlije nego što je jažica negativne kontrole C- (jažica br. 1), soj je otporan na kolistin

**2/** ako je TESTNA jažica obojena narančasto (intenziteta narančaste boje koji je jednak intenzitetu boje jažice C- br. 1), potrebno je ponovno inkubiranje zbirke tijekom 1 sata i nakon toga novo očitavanje. Konačni rezultat dobiva se nakon 3 sata inkubacije.

### • Inokulum iz pozitivnih krvnih kultura

Prvo promatranje izvršite nakon 2 sata inkubacije.

Ako je jažica pozitivne kontrole C+ (jažica br. 3, kontrola rasta bakterija) promijenila boju u žutu, izvršite očitavanje testne jažice (jažica br. 2) :

**1/** Ako je TESTNA jažica obojena žuto (ili žuto-narančasto) i boje svjetlije nego što je jažica negativne kontrole C- (jažica br. 1), soj je otporan na kolistin

**2/** ako je TESTNA jažica obojena narančasto (intenziteta narančaste boje koji je jednak intenzitetu boje jažice C- br. 1) , potrebno je ponovno inkubiranje zbirke tijekom 2 sata i nakon toga novo očitavanje. Konačni rezultat dobiva se nakon 4 sata inkubacije.

Prema CLSI referentnim vrijednostima za enterobakterije (4-5), trenutačno nije dostupna niti jedna kritična koncentracija. Sojevi su stoga kvalificirani kao osjetljivi ili otporni na kolistin u skladu s kriterijima interpretacije koje preporučuje standard EUCAST (6):

-enterobakterijski soj čiji je MIK kolistina ≤ 2 µg/mL, definira se kao osjetljivi soj (rast bakterija je spriječen; narančasta boja medija).

-enterobakterijski soj čiji je MIK kolistina >2 µg/mL, kategoriziran je kao otporan (nije spriječen rast bakterija; narančasto-žuta boja medija).

## 11 - KONTROLA KVALITETE

Kontrola testa može se izvršiti sa sljedećim sojevima iz zbirke:

- *Escherichia coli* ATCC 25922, soj **osjetljiv** na kolistin nakon 2 sata inkubacije (jažica C- narančasta, **TESTNA jažica narančasta**, jažica C+ žuta) - *Proteus mirabilis* ATCC 25933, soj **otporan** na kolistin nakon 2 sata inkubacije (jažica C- narančasta, **TESTNA jažica žuta**, jažica C+ žuta)

- *Escherichia coli* NCTC 13846 (mcr1 pozitivan), soj **otporan** na kolistin nakon 2 sata inkubacije (jažica C- narančasta, **TESTNA jažica žuta**, jažica C+ žuta).

## 12 - UZROCI POGREŠAKA - POSEBNI SLUČAJEVI

Inokulacija jažica mora se izvršiti unutar 60 minuta po završetku izrade bakterijske suspenzije pri zamućenju od McF 3-3,5 u reagensu RP NaCl..

Promjena boje pozitivne kontrole (jažica br. 3) iz zbirke 2 sata prije prije inkubacije ne znači da se rezultati testnih jažica mogu interpretirati.

Preuranjeno očitavanje prije preporučena 2 sata inkubacije može dovesti do pogrešnog rezultata: lažna osjetljivost na kolistin za otporan soj.

Ako pozitivna kontrola iz zbirke (jažica br. 3) ne prikazuje očekivanu promjenu boje (žuto), nije moguće očitavanje niti jedne jažice. Potrebno je novo testiranje.

Neophodno je ne prekoračiti vrijeme inkubacije za očitavanje konačnih rezultata: **to znači 3 h za testove izvedene iz inokuluma izoliranih kolonija , odnosno 4 sata za one dobivene iz pozitivnih krvnih kultura.**

**Za kulture krvi, neophodno je poštivati preporučeno vrijeme inkubacije od 2 do 4 sata.**

Istodobna prisutnost jednog osjetljivog i jednog otpornog soja iste vrste u mješavini krvne kulture ne otežava detekciju otpornog soja.

Prisutnost enterobakterijskog soja osjetljivog na kolistin može otežati detekciju otpornosti neke druge vrste prirodno otpornih enterobakterija istodobno prisutnih u mješavini krvne kulture.

Uzorci krvi trebaju se testirati iz monomikrobnih krvnih kultura.

## 13 - OGRANIČENJA METODE

Bakterijske kolonije koje treba testirati ne smiju biti izolirane na agarima čije je načelo otkrivanje otkrivanje zakiseljenja medija (npr. : agar Drigalski, bromocresol purple (BCP) i MacConkey,) koji nije prilagođen testu Rapid Polymyxin NP. Ovaj medij je odgovoran za prethodno presađivanje bakterija na odgovarajući medij (vidi poglavlje 6 – "Prikupljanje uzoraka").

U slučaju inokulacije iz pozitivnih krvnih kultura, sedimentacija crvenih krvnih zrnaca na dnu jažica ne utječe na očitavanje i interpretaciju promjene boje.

Za testiranje iz izoliranih kolonija, pridržavanje postupka inokulacije iz standardiziranog inokuluma s vrijednošću McF između 3 i 3,5 jamči uspješnost provedenog testiranja.

Granica detekcije (ili analitička osjetljivost) je 10<sup>7</sup> CFU/mL; to odgovara potrebnoj minimalnoj baktericidnoj koncentraciji potrebnoj za detekciju sojeva otpornih na kolistin u krvnom uzorku. Gustoća bakterija manja od 10<sup>7</sup> CFU/mL u mješavini krvne kulture može predstavljati lažne negativne rezultate.

## 14 - IZVEDBE

### 14.1 UČINKOVITOST TESTIRANJA IZ IZOLIRANIH KOLONIJA

Procjena učinkovitosti testa Rapid Polymyxin NP provedena je uUnité Résistances Emergentes aux Antibiotiques (INSERM, Faculté de Science de l'Université de Fribourg u Švicarskoj), i to u odnosu na metodu određivanja minimalnih inhibitornih (MIK) u tekućem mediju (mikrodilucija u bujonu Mueller-Hinton s prilagođenim kationima korištena na način kao što je opisano u smjernici Instituta za kliničke i laboratorijske standarde (4-5) koja se navodi kao referentna metoda.

Bakterije korištene u studiji dolaze iz različitih kliničkih uzoraka i dijele se prema sljedećim vrstama :

Testirana	Broj vrsta	vrsta	Broj vrsta	Testirana	Broj vrsta
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	113	<i>Enterobacter absuriae</i>	2	<i>Proteus stuartii</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	40	Morganella morganii	2	<i>Proteus vulgaris</i>	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	16	<i>Proteus mirabilis</i>	2	<i>Salmonella concord</i>	1
<i>Citrobacter freundii</i>	8	<i>Proteus rettgeri</i>	2	<i>Salmonella isangi</i>	1
<i>Citrobacter koseri</i>	8	<i>Salmonella enterica</i>	2		
<i>Enterobacter aerogenes</i>	8	<i>Serratia marcescens</i>	2		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	8	<i>Salmonella sp.</i>	2		

odabrano je 219 sojeva najreprezentativnijih vrsta enterobakterija koje obuhvaćaju 78 osjetljivih i 141 soj otporan na kolistin.

Među otpornim sojevima uočeni su različiti molekularni mehanizmi otpornosti na polimiksin (kromosomski, plazmidni, intrinzični ili nisu određeni).

MIK sojeva otpornih na kolistin i njihov mehanizam otpornosti su sljedeći :

MIK (µg/mL)	0,125	0,25	0,5	<1	1	2	4	8	16	>16	32	64	128	>128
Broj koja sadrži	9	1	1	60	3	4	8	18	19	10	21	33	20	12

Mehanizam otpornosti			Broj soja
<b>Višestruka intrinzična (prirodna)</b>			10
<b>Stečena otpornost</b>	kromosoma	otpornost	2
		gena kromosoma MgrB	70
		mutirani gen PhoP ili Q	2
		mutiranog gena PmrA ili B	10
	mutiranog	gena plazmida mcr -1	30
<b>Nepoznati mehanizam</b>			17

Bakterijski sojevi ponovno su izolirani na agaru (Luria Bertani, Mueller Hinton, Columbia s 5% krvi) tijekom 18-24 sata kako bi se testirao Rapid Polymyxin NP usporedno s određivanjem MIK-ova tehnikom tekućeg mikrorazrjeđivanja CLSI.

Test Rapid Polymyxin NP je interpretiran nakon 2 i 3 sata inkubacije. Postotak kliničke podudarnosti testa Rapid Polymyxin NP je 97,7% u usporedbi s metodom MIK u tekućem mediju. Osjetljivost testa iznosi 99,3%, a specifičnost 94,9%.

Postoje 4 velike nepodudarnosti (DM) (MIK-a između 1 i 2 mg/l) i vrlo velika nepodudarnost (DTM) (soj *Klebsiella pneumoniae* 8 mg/l čiji mehanizam otpornosti nije poznat).

Postotak kliničke podudarnosti u slučaju 1 gotove otopine je 99,1 %. I dalje postoje 1 DM i 1 DTM.

Što se tiče vremena inkubacije, svi sojevi dali su interpretabilni rezultat u 2 sata. Osim toga, profil osjetljivih sojeva je stabilan čak i nakon 3 sata inkubacije.

## 14.2 UČINKOVITOST TESTIRANJA IZ POZITIVNIH KRVNIH KULTURA

Ukupna učinkovitost dobivena kombinacijom dva tipa protokola krvne kulture:

Ukupna	klinička krvne kulture	učinkovitost krvnih kultura*	obogaćene
<b>Osjetljivost</b>	66,7%	98%	<b>96,3%</b>
<b>Specifičnost</b>	100%	100%	<b>100%</b>

\*krvne kulture nadopunjene sojevima enterobakterija osjetljivih ili otpornih na kolistin

## • Učinkovitost testiranja provedenih iz klinički pozitivnih krvnih kultura

27 klinički pozitivnih krvnih kultura sadržanih u bočicama aerobnih i anaerobnih kultura (BD BACTEC™ Plus Aerobic/F i Plus Anaerobic/F) iz jednokratnog uzorka pacijenta detektirani su pomoću uređaja Becton Dickinson FX i analizirani od strane CHUV de Lausanne, Švicarska, Pr. G. Greub.

Raspodjela testiranih vrsta je 19 *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, 2 *Klebsiella oxytoca*, 2 *Enterobacter aerogenes*, 1 *Proteus mirabilis* i 1 *Serratia marcescens*.

Dva soja prirodne otpornosti na kolistin (*Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*) prikazala su pozitivne rezultate podudarnosti tijekom 4 sata inkubacije za svaku aerobnu i anaerobnu kulturu.

Soj bakterije *Klebsiella pneumoniae* otporne na kolistin (MIK = 8 mg/l) nije otkriven (lažni negativni rezultat) unutar 4 sata od inkubacije testa. Za kliničke krvne kulture, osjetljivost testa je 66,7% , a specifičnost 100%.

Gustoća bakterija testiranih skupova bujona krvnih kultura u ovoj studiji bila je  $\geq 10^7$  CFU/mL, s izuzetkom 2 anaerobne bočice gustoće  $10^6$  CFU/mL.

## • Učinkovitost testova provedenih iz obogaćenih krvnih kultura:

Da bi se testiralo više otpornih slojeva, CHUV je proveo obogaćeni protokol krvne kulture.

Od 72 testirana soja, 51 otporan soj sadržavao je različite genotipe otpornosti na kolistin, a 21 soj je bio osjetljiv. Testirane su aerobne i anaerobne bočice svakog soja.

Od 51 otpornog soja, opažena je samo jedna nepodudarnost kod jednog soja *E. coli* MCR-1 (lažni negativni rezultat).

Za obogaćene krvne kulture, osjetljivost testa je 98%, a specifičnost 100%.

## 15 - ODLAGANJE OTPADA

Otpad mora biti zbrinut u skladu s higijenskim pravilima i propisima koji su na snazi za ovu vrstu reagensa u zemlji uporabe.

## 16 - BIBLIOGRAFIJA

1 - Nordmann P, Jayol A, Poirel L . 2016. Rapid detection of polymyxin resistance in Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis 22:1038-1043

2 - Nordmann P, Jayol A, Poirel LI, EP15305409.3: «Test for determining susceptibility to resistance to polymyxins in Enterobacteriaceae», 20th March 2015

3 - Jayol A, Dubois V, Poirel L, Nordmann P. 2016 Rapid detection of polymyxin-resistant Enterobacteriaceae from blood cultures. J Clin Microbiol 54:2273-2277.

4 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution of antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. 10th ed. Document M07-A10. Wayne (PA): The Institute; January 2015.

5 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th edition. Document M100-28. Wayne (PA): The Institute; 2018.

6 - Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2017. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, V1.0 mars 2017.

Promjene u odnosu na prethodnu verziju su označene sivom bojom.

**ELITech MICROBIO**

Parc d'activités du Plateau  
allée d'Athènes  
83870 SIGNES  
FRANCE

☎: 33 (0)4 94 88 55 00

Fax: 33 (0)4 94 32 82 61

http://www.elitechgroup.com

