

RAPID POLYMYXIN NP

Endobakterijų jautrumo ir atsparumo
polimiksinams (kolonijoms ir kraujo kultūroms) nustatymas
10 testų (REF 23000)



CPB 0405-LT-2018-02

Diagnostikai *in vitro*, tik profesionalams

Testai yra tik vienkartinio naudojimo.

I – TIKSLAS

Rapid Polymyxin NP testas gali nustatyti endobakterijų jautrumą ir atsparumą polimiksinams (polimiksinui E arba kolistinui ir polimiksinui B) bakterijų kultūroje agarų terpėje ar teigiamoje kraujo kultūroje.

2 – POREIKIS

Kelioms antibiotikų šeimoms atsparių bakterijų (vadinamų sudėtinio atsparumo baterijomis, SAB) kūrimas yra rimtas su visuomenės sveikata susijęs iššūkis, gerokai sumažinantis gydymo galimybes ir padidinantis mirtingumo lygį intensyviuosios terapijos skyriuose. Iš SAB enterobakterijos (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* arba kiti po rūšiai yra pagrindiniai SAB gram-neigiamų bacilų šaltiniai. Jos sukelia dažniausiai pasitaikančias infekcijas organizme (šlapimo, plaučių, pilvo, kraujo) ir nosokomines infekcijas. Be to, jų įgytas atsparumas beta-laktaminams (penicilinams, cefalosporinams, monobaktamams) ir plataus spektro aminoglikozidais ir chinolonai vis pranešta pasaulyje. Tai bakterinė augimas BMR atnaujina susidomėjimą sename klasės antibiotikų, Polimiksinai (Colistin arba polimiksiną E ir polimiksino B), kuris paprastai yra laikomi molekulių kraštutiniu atveju.

Tačiau, vis daugiau naudojama kolistinui šiandien pradėta atsirasti ir proliferacijos naują multi-Enterobacteriaceae padermių, atsparių kolistinui ir karbapenemų, ir reiškia naują grėsmę terapinio arsenalo išlikimo Todėl efficace. Le kontrolė terapinių esamų problemų ir kontrolės infekcinių rizikos klinikinių nustatymus reikalauja greitai įvertinti modelių jautrumo ir atsparumo bakterijų padermių kolistinui.

Šiuo metu turimi už jautrumą ar atsparumo nustatymo į kolistinui metodai nėra tinkami klinikiniai ir ligoninių poreikius. Jie laikomi varginantis, ilgai (24 val per skysta terpė MIC) arba nepatikimi, nes dėl sklaidos būdus agarų atveju.

Greitas Polimiksinas NP testas yra naudojamas apibrėžti žarnyne tirpstančio kolistinui pasipriešinimą, yra mažesnis kaip 3 h ir jautriai ir specialiu būdu. Šis testas yra greitas, paprastas naudoti, lengva skaityti ir tinka visų analizės laboratorijose. Ji naudoja skystą aptikimo metodą visų fenotipo atsparumo, kuris leidžia nedelsiant sukurti atitinkamais antibiotikais gydymui arba identifikavimo vežėjų atsparių kolistinui padermių, siekiant apriboti Epideminių plitimų riziką.

3 - VEIKIMO PRINCIPAS

Rapid Polymyxin NP testas pagrįstas Nord- Mannas, Jayol ir Poirel (1-2-3).

Šis skystas metodas priklauso nuo kolorimetrinio aptikimo greitam gliukozės metabolizmui, susijusiam su bakterijų augimu, esant nustatytai kolistino koncentracijai.

Kultūrinės terpės rūgštingumas dėl šio poveikio duoda spalvos pokytį nuo pH indikatoriaus oranžinės iki geltonos spalvos (fenolio raudonasis).

4 – REAGENTAI

Aprašymas	Kiekis
RP NaCl: buteliukas 3 mL skystos terpės, kurioje yra 0,85 g/L NaCl, skirto paruošti sėjimo kultūrai	12
RP Medium : buteliukas su 1,5 mL vidurio kultūra enterobakterijoms, sultinio pagrindo Mueller-Hinton (25 g / L), pakoreguota katijonuose gliukozei ir 10 g/L, o raudona spalva rodo fenolį (50 mg / L) kaip pH indikatorius	10
RP kolizistinės plokštelės: plokštelė, kurioje yra šulinėlis neigiamis kontrolės C-, testo šulinėlis, kuriame yra 2 µg/mL koncentracija, ir kontrolinis šulinėlis bakterijų augimui C+. Plokštelė aliuminio maišelyje su integruotu sausikliu.	10
RP TC (drumstumo kontrolė) : 3 mL buteliukas su tirpalu bario sulfato kaip drumstumo kontrolės	1
Uždarymo sistema: apsauginis dangtelis plokštelėms iš permatomo plastiko	10

5 - ATSARGUMO PRIEMONĖS

Šio rinkinio reagentai skirti tik diagnostikai *in vitro* ir juos turi naudoti tik apmokyti asmenys. Mėginiai, bakterinės kultūros ir sėjami reagentai yra potencialiai užkrečiami dirbti su išankstiniu atsargumo priemonių nuostatu laikantis higienos taisyklių ir reglamento toje šalyje, kurioje naudojamas šis produktas.

Mikrobiologinės saugos postas (PSM) yra reko mendojamas.

Nenaudokite reagentų po galiojimo pabaigos datos.

Reagentai turi būti laikomi temperatūroje nuo +2 iki +8°C.

Negalima naudoti pažeistų ar prastai konservuotų reagentų ir medžiagų.

Nenaudokite RP Medium buteliuko su nutekėjimo požymiais.

Pasiekti rezultatai testui Rapid Polymyxin NP naudokite jautrumui ar atsparumui enteritacinių padermių kolistinui nustatyti, bet negalima naudoti atskirai klinicinei diagnostikai atlikti. Tai turi atlikti gydytojas

6 - MĖGINIŲ SURINKIMAS

Mikroorganizmai teste turi duoti reakciją

dėl ne rūgščiųjų mitybos terpių (tipų Luria Bertani, Mueller Hinton, Kolombijos agarų 5% avių kraujo, Sokolado agarų Poly/itex, Eozino Metileno mėlynojo agarų ar chromogeninio agarų. Į sąrašą neįtraukiami tokių terpių kaip, pvz., Drigalski tipo agarai. Rezultatų testavimas turėtų būti atliekamas iš neseniai gautų kolonijų (15 h - 24 h inkubavimo metu). Enterobakterijos iš egzempliorių gali būti išbandytos tiesiogiai su nedidelėmis kraujo kultūromis, ir mikrobu, inkubuotų aerobinėmis ar anaerobinėmis sąlygomis.

7 - REAGENTŲ PARUOŠIMAS IR SAUGOJIMAS

Visi tiekiami reagentai yra paruošti naudoti. Rinkinyje ir reagentai, laikomi + 2 + 8°C temperatūroje jų originalioje pakuotėje, yra stabilūs iki rinkinio nurodyto tinkamumo laiko.

RP Medium ir RP NaCl reagentai skirti tik vienkartiniam naudojimui. Jei RP TC reagentas naudojamas inokuliams kalibruoti iš izoliuotų kolonijų, jis turi būti laikomas, kol bus naudojamas paskutinis reagento RP Medium rinkinys. RP TC reagentą reikia laikyti + 2 + 8°C temperatūroje ir apsaugoti nuo šviesos.

8 - REIKALINGOS, BET NEJEINANČIOS Į RINKINĮ MEDŽIAGOS

Užterštų atliekų konteineriai.
Densitometras
Pipetė ir gaubteliai
Ekvivalentas +36°C/-2°C

9 - OPERATYVINĖ PROCEDŪRA

9.1. Bandymai iš izoliuotų kolonijų žėlės terpėje

GRAM neigiamos bakterijos fenotipą reikia patikrinti atlikus GRAM dažymą.

Bandymas turėtų būti atliekamas tik iš kolonijų, identifiкуotų kaip Enterobakterijos, be inter alia Pseudomonas aeruginosa ir Acinetobacter baumannii.

Reagentus įpilkite kambario temperatūroje 10 min. Išankstine inkubuokite RP terpę 10 minučių 37 °C temperatūroje.

Išimkite lipnią dangtelį apatinėje galerijos dalyje (1, 2 ir 3 šulinė).

• Neigiamos kontrolės paruošimas:

Paskirstykite pagal C- n° 1:

-75 µL RP Medium nėra užkrėsta

-25 µL RP NaCl neužkrėstas

• Bakterijų suspensijos ruošimas RP NaCl buteliuke:

Perkelkite nuo trijų iki keturių vienodų izoliuotų kolonijų, naudodami 10 µl grietinę arba užsikimšusią "Pasteur" pipetę.

Išimkite buteliuką RP NaCl ir gerai sumaišykite.

• Inokuliacijos standartizavimas:

Rekomenduojama standartizuoti inokuliatą naudojant densitometrą. Tačiau buteliukas RP TC yra prieinamas geros vartotojų praktikos sąlygomis (žr. buteliuką RP TC).

- Naudojant densitometrą

Patikrinkite drumstumą densitometru kad jis būtų nuo 3 iki 3,5 Mc Farland (Mc F). Tai turėtų būti mažiausia vertė, gauta maišant buteliuką prietaisu. Jei Mc F yra mažesnis nei 3 (nepakankamas sėjimas), nusodinkite daugiau, kol bus gautas McF tarp 3 ir 3,5. Jei Mc F yra didesnis nei 3,5 (inokuliatas per daug prisotintas), praskieskite naują buteliuką RP NaCl, kol bus pasiektas teisingas skaidrumas. 2 buteliukai NaCl RP papildomi yra įtraukti į rinkinį ir turi būti išmesti po naudojimo.

Pateikiamas RP NaCl buteliukas ir nesuderinamumas tarp densitometras, rekomenduojama:

- supilkite turinį į su prietaisu suderinamą mėgintuvėlį,

- gaukite vertę 0 Mc F,

- tada pridėkite kolonijas, kol bus gaunamas Mc F 3-3,5.

- Palyginkite su RP TC buteliuku

Šis vizualaus skaitymo metodas gali būti subjektyvus ir reikalingas dėl geros laboratorinės praktikos, siekiant užtikrinti metodo patikimumą naudojant 3-3,5 Mc F buteliuke su RP NaCl inokulu.

Siekiant užtikrinti reikalingą RP buteliuko optinį tankį

Reikia inokuliuoti NaCl pagal RP TC

taip patikrinant inokuliatą sutrikimo procesą.

Metodika:

Pakoreguokite terpės skaidrumą pagal kontrolės drumstumo lygį

RP TC pagal juodus buteliuko etiketės linijas. Prireikus

sureguliuokite sutrikimą, kaip nurodyta anksčiau.

• Sėjimo kultūros paruošimas RP terpėje ir paskleidimas po plokštelę:

- Perpilkite 500 µL RP NaCl, prisotintą RP Medium terpės.
- Gerai homogenizuokite ir paskirstykite RP Medium terpę:
-100 µL pagal šulinėlio tyrimą Nr. 2 (kuriame yra kolistino)
-100 µL pagal šulinėlio tyrimą Nr. 3 su bakterijų augimo kontrole C+ (be kolistino)
Uždarykite plokštelę uždarymo sistemos dangteliu.
Pažymėkite plokštelę testuoto mėginio nuoroda. Inkubuokite plokštelę +36 +/-2°C 2-3 valandas.
Pirmasis patikrinimas gali būti atliktas po 2 valandų inkubavimo (žr. Galutinio rezultato paragrafo 10 nuostatas sk. Patikrinimas ir aiškinimas).

9.2. TESTAS IŠ TEIGIAMO HEMOKULTŪROS TIRPALO

Testas turi būti atliekamas tik iš teigiamos vienos mikrobinės kraujo kultūros, turinčios enterobakterijų (įsk. *Pseudomonas aeruginosa* ir *Acinetobacter baumannii*), identifiukuotos pagal MALDI TOF. Reagentus palaikykite kambario temperatūroje (nuo +18°C iki +25°C) 10 minučių. Iš anksto inkubuokite RP Medium 10 minučių 37°C temperatūroje.

Nulupkite lipnų dangtelį apatinėje plokštelės dalyje (1, 2 ir 3 šulinėlis).

Neigiamos kontrolės paruošimas:

Paskirstykite pagal C- n° 1:

- 75 µL neapsodintos RP Medium terpės

- 25 µL neinokuliuoto RP NaCl tirpalo

Bakterinės suspensijos paruošimas NaCl RP buteliuke: 300 µL monomikrobinio teigiamo kraujo kultūros perpilama į RP NaCl buteliuką Gerai sumaišykite

Sėjimo kultūros paruošimas RP terpėje ir paskleidimas po plokštelę:

Perpilkite 500 µL RP inokuliuoto NaCl į RP Medium terpės buteliuką, gerai sumaišykite ir praskieskite inokuliuotą RP Medium terpę:

- 100 µL 2 testo šulinėlyje (su kolistinu)

- 100 µL 3 testo šulinėlyje su bakterijų augimo kontrole C+ (be kolistino)

Uždarykite plokštelę uždarymo sistemos dangteliu. Pažymėkite plokštelę testo etikete.

Inkubuokite plokštelę +36 +/- 2°C temperatūroje **2-4 valandas**. Pirmasis patikrinimas gali būti atliktas po 2 valandų inkubavimo (žr. Galutinio rezultato paragrafo 10 sk. Patikrinimas ir aiškinimas).

10 - TIKRINIMAS IR INTERPRETAVIMAS

Rezultatai vertinami identifikuojant ir lyginant testo spalvą su C+ ir C- šulinėlių spalvomis.

Neigiama patikros kontrolė (neigiamos kontrolės šulinėlis C- Nr. 1):

Neigiamos kontrolės šulinėlis Nr. 1 (C-) turi pradinę (oranžinę) terpės spalvą. Pagal į šią kontrolę vertinamas testo šulinėlio spalvos pokytis.

Jei C- yra geltonos spalvos, testas netinkamas. Tokiu atveju nevertinkite rezultato ir kartokite testą.

Patvirtinimas (teigiamos kontrolės šulinėlis C+ n°3):

Patikrinkite, ar bakterijų augimo kontrolę (C+) atitinkanti terpė tapo geltona.

Šulinėlio Nr. 2 testo rezultatų patikrinimas ir interpretavimas:

Medžiagos spalva (iš pradžių oranžinė), pasikeičianti į geltonai oranžinę arba geltoną, rodo, kad štamai gali vystytis su 2 µg/mL kolistinu.

Kita vertus, jei terpės spalva nesikeičia, tai rodo, kad štamai vystymasis esant kolistino koncentracijai 2 µg/mL yra slopinamas.

• Inokuliatas iš izoliuotų kolonijų

Pirmą kartą patikrinkite po 2 valandų inkubacijos.

Jei C+ teigiamos kontrolės šulinėlis (šulinėlis Nr. 3, bakterijų augimo kontrolė) pasikeičia į geltonumą, reikia patikrinti testo šulinėlio parodymą (šulinėlis Nr. 2):

1 / Jei testo šulinėlis yra geltonas (arba geltonai oranžinis, arba šviesesnės spalvos) nei neigiamos kontrolės šulinėlis C- (šulinėlis Nr. 1), tai štamai yra atsparūs kolistinui

2 / Jei testo šulinėlis yra oranžinis (arba oranžinės spalvos, kurios intensyvumas prilygsta šulinėliui C- Nr. 1), tada dar kartą inkubuokite plokštelę 1 valandą ir iš naujo atlikite patikrinimą. Galutinis rezultatas patikrinamas po 3 val. inkubavimo.

• Inokuliatas iš teigiamų kraujo kultūrų

Pirmą kartą patikrinkite po 2 valandų inkubacijos.

Jei C+ teigiamos kontrolės šulinėlis (šulinėlis Nr. 3, bakterijų augimo kontrolė) pasikeičia į geltonumą, reikia patikrinti testo šulinėlio parodymą

(šulinėlis Nr. 2):

1/ Jei testo šulinėlis yra geltonas (arba geltonai oranžinis, arba šviesesnės spalvos) nei neigiamos kontrolės šulinėlis C- (šulinėlis Nr. 1), tai štamai yra atsparūs kolistinui

2/ Jei testo šulinėlis yra oranžinis (arba oranžinės spalvos, kurios intensyvumas prilygsta šulinėliui C- Nr. 1), tada dar kartą inkubuokite plokštelę 1 valandą ir iš naujo atlikite patikrinimą. Galutinis rezultatas patikrinamas po 4 val. inkubavimo.

Pagal CLSI (4-5) retroferentą enterobakterijoms šiuo metu kritinių koncentracijų nėra. Todėl štamai yra klasifikuojami kaip jautrūs arba atsparūs kolistinui pagal EUCAST standarto rekomenduojamus interpretavimo kriterijus (6):

MIC enterobakterijų štamai su kolistinu ≤ 2 µg/mL yra klasifikuojamas kaip jautrus (slopinamas bakterijų augimas, terpės oranžinis dažymas).

-Enterobakterijų štamai nuo MIC iki kolistino MIC > 2 µg/mL yra priskiriamas prie atsparių štamų (nekontroliuojamas bakterijų augimas, geltonos / oranžinės arba geltonos spalvos terpė).

11 - KOKYBĖS KONTROLĖ

Testo kontrolę galima atlikti su surinktais štamais:

- *Escherichia coli* ATCC 25922, štamai **jautrus** kolistinui po 2 valandų inkubacijos (šulinėlis C- oranžinis, **šulinėlis TEST oranžinis**, šulinėlis C+ geltonas) - *Proteus mirabilis* ATCC 25933, štamai **atsparus** kolistinui po 2 valandų inkubacijos (šulinėlis C- oranžinis, **šulinėlis TEST geltonas**, šulinėlis C+ geltonas)

- *Escherichia coli* NCTC 13846 (mcr1 positive), štamai **atsparus** kolistinui po 2 val. inkubacijos (šulinėlis C- oranžinis, **šulinėlis TEST geltonas**, šulinėlis C+ geltonas).

12 - KLAIDŲ PRIEŽASTYS - YPATINGI ATVEJAI

Šulinėlių inokuliacija turi būti atlikta per 60 minučių po bakterijų suspensijos užbaigimo, esant Mc F 3-3,5 drumstumui su RP NaCl reagentu.

Plokštelių teigiamos kontrolės (šulinėlis Nr. 3) spalvos poslinkis per 2 valandas inkubacijos nereiškia, kad testų šulinėlių rezultatus galima interpretuoti.

Patikrinus rezultatais anksčiau nei prieš rekomenduojamas 2 valandas inkubacijos gali būti gautas klaidingas rezultatas: klaidingas jautrumas kolistinui atspariame štame.

Jei teigiama plokštelės kontrolė (šulinėlis Nr. 3) nerodo laukto spalvos pasikeitimo (geltonos spalvos), tokio šulinėlio rezultato interpretuoti negalima. Būtina atlikti naują testą.

Būtina neviršyti galutinių rezultatų patikrinimo inkubacijos laikų: atitinkamai **per 3 val. po izoliuotų kolonijų testo, pagaminto iš inokuliatu, ir 4 val. pagamintiems iš teigiamų kraujo kultūrų.**

Dėl kraujo kultūrų būtina laikytis rekomenduojamo 2-4 val. inkubavimo laiko.

Jei hemokultūros tirpale vienu metu yra to paties tipo endobakterijų atsparus štamai ir jautrus štamai vienu metu, tai netrukdo aptikti atsparų štamą.

Kolistino jautrios enterobakterinio štamai buvimas gali susilpninti kitų natūraliai atsparių enterobakterijų rūšių, kurios yra natūraliai atsparios ir tuo pačiu metu yra kraujo kultūros tirpale, atsparumo nustatymą.

Kraujo mėginiai turėtų būti ištirti iš monomikrobinų kraujo kultūrų.

13 - METODO APRIBOJIMAI

Testuojamos bakterijų kolonijos neturi būti izoliuotos agarų plokštelėse, kuriose atsiskleidžia terpės rūgštingumas (pvz., Drigalski, bromokrezolio violetinė (BCP) ir MacConkey) ir kurios nėra tinkamos Rapid Polymyxin NP testui atlikti. Būtina iš anksto pasiruošti tinkamą terpę (žr. 6 sk. Mėginių surinkimas).

Jei inokuliuojamos teigiamos kraujo kultūros, raudonųjų kraujo ląstelių nusėdimas šulinėlių dugne netrukdo vertinti ir aiškinti spalvų pokytį.

Atliekant izoliuotų kolonijų testus, testo veikimą užtikrina standartizuoto inokuliatu naudojimas su nuo 3 iki 3,5 McF.

Aptikimo riba (arba analitinis jautris) yra 10⁷ CFU/mL; tai atitinka minimalią bakterijų kiekį, reikalingą kolistinui atsparių štamų aptikimui kraujo mėginyje. Bakterinis tankis, mažesnis nei 10⁷ CFU/mL kraujo kultūros tirpale, gali duoti klaidingai neigiamą rezultatą.

14 - VERTINIMAS

14.1. IZOLIUOTŲ KOLONIJŲ TESTAVIMAS

Rapid Polymyxin NP tyrimo rezultatų įvertinimas buvo atliktas Atsirandančiojo atsparumo antibiotikams skyriuje (INSERM, Friedricho universiteto Sveicarijos mokslo fakultetas) pagal koncentracijos nustatymo metodą Mažiausiai slopinantys inhibitoriai (MIC) skystoje terpėje (Muellerio-Hintono tirpalo mikropraskiedimas su katijonais, taikomas pagal Klinikinės laboratorijos standarto instituto gaires (4-5), vadinamas atskairiniu metodu.

Tyrimo bakterijos yra iš įvairių tarptautinių klinikinių mėginių ir yra suskirstytos pagal šias rūšis:

Rūšis	Kiekis testas	Rūšis	Kiekis testas	Rūšis	Kiekis testas
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	110	<i>Enterobacter absuriae</i>	2	<i>Proteus stuartii</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	40	<i>Morganella morgani</i>	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		

219 endobakterijų štamų buvo parinkti iš tipiškiausių enterobakterijų rūšių, kurių sudėtyje yra 78 jautrūs štamai ir 141 kolistitui atsparus štamai.

Tarp atsparių štamų atsiranda įvairūs molekuliniai atsparumo polimiksinams mechanizmai (chromosomos, plazmidės, būdingos arba nenustatytos reakcijos).

Kolistino štamų MIC ir jų atsparumo mechanizmas yra toks:

MIC (µg/mL)	0,125	0,25	0,5	<1	1	2	4	8	16	>16	32	64	128	>128
Kiekis pgl. štamai	9	1	1	60	3	4	8	18	19	10	21	33	20	12

Atsparumo mechanizmai			Atrinktas štamai
Vidinis atsparumas (natūralus)			10
Igytas pasipriešinimas	chromosomų	hetero-atsparumas	2
		MgrB geno mutacija	70
		PhoP arba Q geno mutacijai	2
		PmrA arba B geno mutacija	10
	plazmidės	genų mutacija mcr -1	30
Nežinomas mechanizmas			17

Bakterijų štamai 18-24 valandas buvo iš naujo izoliuoti agaru (Luria Bertani, Mueller Hinton, Columbia 5 % kraujas), siekiant išbandyti Rapid Polymyxin NP lygiagrečiai su MIC nustatymu taikant skysto mikroskiedo CSLI.

Rapid Polymyxin NP testas buvo interpretuojamas po 2 ir 3 val. inkubacijos. Rapid Polymyxin NP tyrimo kliniškinis atitikimo procentas yra 97,7 %, palyginti su skysto MIC metodu. Tyrimo jautrumas yra 99,3 %, o specifiskumas - 94,9 %.

Yra 4 pagrindiniai skirtumai (DM) (MIC tarp 1 ir 2 mg/L) ir labai svarbi neatitikimų (DTM) (štamai *Klebsiella pneumoniae* 8 mg/l MIC, kurio atsparumo mechanizmas nėra žinomas).

Kliniškinio suderinamumo procentas iki 1-o praskiedimo yra 99,1 %. Jis išlieka 1 DM ir 1 DTM.

Kalbant apie inkubacijos laiką, visi štamai duodavo interpretuojamą rezultatą per 2 valandas. Be to, jautrių štamų profilis yra stabilus net po 3 valandų inkubacijos.

14.2. PATIKRINIMO HEMOKULTŪRŲ TYRIMAS

Bendras veikimas, gautas derinant dviejų tipų kraujo kultūrų protokolus:

Veikimas	Kraujo kultūra kliniškos	Kraujo kultūros prisotinimas *	Visuotinis
Jautrumas	66,7 %	98 %	96,3 %
Specifiškumas	100 %	100 %	100 %

* praturtintas: kraujo kultūros, papildytos kolistino jautrių arba atsparių enterobakterijų štamais

• Iš teigiamų kliniškinų kraujo kultūrų atliktų tyrimų atlikimas

27 teigiamos kliniškinės kraujo kultūros, esančios aerobinės ir anaerobinės kultūros mėgintuvėliuose (BD BACTEC Plus Aerobic / F Plus)

Anaerobinė / F) iš nedubliuojamo paciento mėginio buvo aptiktos Becton Dickinson, FX automatizuotame tyrime ir išanalizuotos CHUV Lozano institute Šveicarijoje. Pr. G. Greub.

Testų pasiskirstymas: 19 *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, 2 *Klebsiella oxytoca*, 2 *Enterobacter aerogenes*, 1 *Proteus mirabilis* ir 1 *Serratia marcescens*.

Dvi natūraliai kolistinui atsparios padermės (*Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*) davė teigiamą rezultatą po 4 valandų inkubacijos kiekvienai aerobinei ir anaerobinei kultūrai.

Štamo *Klebsiella pneumoniae* atsparumas kolistinui (MIC = 8 mg/L) nebuvo nustatytas (klaidingai neigiamas rezultatas) per 4 valandas po testo inkubacijos.

Kliniškinų kraujo kultūrų testo jautrumas yra 66,7 %, o specifiskumas - 100 %.

Šiame tyrime ištirtų visų kraujo kultūros tirpalų tankis buvo $\geq 10^7$ CFU/mL, išskyrus 2 anaerobinius mėginius su 10^6 CFU/mL.

• Su prisotintomis kraujo kultūromis atliktų tyrimų rezultatai:

Siekiant ištirti labiau atsparius štamus, CHVV pritaikė praturtintą kraujo kultūros protokolą.

Iš išbandytų 72 štamų, 51 atspariam štamui buvo nustatyti skirtingi atsparumo kolistinui genotipai ir nustatytas 21 jautrus štamai. Kiekvienas štamai buvo išbandytas aerobinėse ir anaerobinėse kultūrose.

Iš 51 atsparių štamų buvo nustatytas vienas neatitikimas rūšiai *E. coli* MCR-1 (klaidingai neigiamas rezultatas).

Prisotintų kraujo kultūrų testo jautrumas yra 98 %, o specifiskumas - 100 %.

15 - ATLIEKŲ ŠALINIMAS

Atliekos turi būti šalinamos laikantis higienos normų ir taisyklių, galiojančių šiai rūšiai produkto naudojimo šalyje.

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. Dokumentas M100-28. Wayne (PA): The Institute; 2018.

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

Ankstesnės versijos pakeitimai pažymėti pilka spalva.

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

Tel.: 33 (0)4 94 88 55 00
Fax.: 33 (0)4 94 32 82 61
<http://www.elitechgroup.com>

