

## RAPID POLYMYXIN NP

Detekcija polimiksinse osetljivosti i rezistencije enterobakterija (iz kolonija i hemokulture)

10 testova (Kat. br. 23000)

CPB 0405-RS-2018-02

Isključivo za *in vitro* dijagnostičku i profesionalnu upotrebu.

Testovi su samo za jednokratnu uporabu.



### 1 - NAMENA

Proizvod Rapid Polymyxin NP test je dizajniran za detekciju osetljivosti i rezistencije na polimiksine (polimiksin E ili kolistin, i polimiksin B) familije *Enterobacteriaceae*, iz kolonija uzgajanih na podlogama agara ili pozitivnih hemokultura.

### 2 - UVOD

Pojava multi-rezistentnih bakterija na veći broj familija antibiotika (multirezistentne bakterije ili MRB) predstavlja problem za javno zdravlje, zato što značajno smanjuje mogućnost terapijskog lečenja, kao i zbog povećanja smrtnosti u jedinicama intenzivne nege.

Među MRB, patogeni iz familije *Enterobacteriaceae* (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* i druge) predstavljaju najvažniji problem: odgovorni su za najveći broj hospitalnih i ne-hospitalnih infekcija (infekcije urinarnog trakta, pluća, krvi, intra-abdominalne infekcije).

Šta više, u svetu se povećava broj slučajeva stečene rezistencije na  $\beta$ -laktamske antibiotike (penicilin, cefalosporin, monobaktam) i na širi spektar karbapenemskih antibiotika (karbapenemi, amino-glikozidi i hinoloni).

Pojava MRB je obnovila interesovanje za staru klasu antibiotika, polimiksine (polimiksin E ili kolistin i polimiksin B), koji se smatraju poslednjim sredstvom u lečenju.

Međutim, trenutno, povećana upotreba kolistina dovodi do pojave i multiplikacije novih multi-rezistentnih sojeva *Enterobacteriaceae*. Kombinovana rezistencija na kolistin i karbapeneme predstavlja novu pretnju po efikasnost terapijskog arsenala.

Stoga, rukovođenje slučajevima koji su teški za lečenje i predstavljaju infektivni rizik u kliničkom okruženju zahteva brzu procenu osetljivosti na kolistin i profil rezistencije bakterijskih sojeva.

Trenutno dostupne metode za određivanje osetljivosti i rezistencije na kolistin nisu dovoljno adaptirane na kliničke i bolničke zahteve. Zahtevaju mnogo vremena, rezultat se čeka dugo (24 časa, Minimalna Inhibitorna Koncentracija u tečnom medijumu), ili su nepouzdana, npr. metode difuzije u agaru.

Proizvod Rapid Polymyxin NP test je istovremeno osetljiv i specifičan, i omogućava određivanje rezistencije *Enterobacteriaceae* na kolistin za manje od 3 časa. Test je brz, jednostavan za upotrebu, i pogodan za sve medicinske laboratorije. Koristi tečnu metodu detekcije svih rezistentnih fenotipova, što omogućava trenutnu primenu odgovarajućeg antibiotskog tretmana, ili identifikaciju nosilaca kolistinske rezistencije, da bi se ograničio rizik od širenja epidemije.

### 3 - PRINCIP

Proizvod Rapid Polymyxin NP test je baziran na principu koji su opisali Nordmann, Jayol i Poirel (1-2-3).

Ova tečna metoda se oslanja na kolorimetrijsku detekciju brze metabolizacije glukoze koja je povezana sa bakterijskim rastom u prisustvu definisane koncentracije kolistina. Acidifikacija medijuma, nakon metabolizacije glukoze, se dokazuje promenom boje (od narandžaste do žute) pH indikatora (fenol crveno).

### 4 – REAGENSI

Opis	Količina
RP NaCl : bočica 3mL NaCl rastvora (0.85 g/L) za pripremu inokulacije	12
RP Medium : bočica 1.5mL medijuma za kultivaciju koji sadrži katjon- prilagođenu Mueller Hinton podlogu (25 g/L), glukozu (10 g/L) i fenol crveno (pH indikator)	10
RP colistin tray: Test koji sadrži bunar sa negativnom kontrolom C-, bunar za uzorak sa kolistinom u koncentraciji 2 $\mu$ g/mL i bunar za kontrolu bakterijskog rasta ili pozitivnu kontrolu C+. Test je zapakovan u aluminijumsku kesicu sa integrisanim desikantom	10
RP TC (Turbidity Control): bočica 3mL barijum sulfata za kontrolu turbiditeta	1
Closing System: Zaštitni providni plastični poklopac za inokulisani test	10

### 5 – MERE PREDOSTROŽNOSTI

Reagensi su isključivo namenjeni za *in vitro* upotrebu i mora ih koristiti ovlašćeno osoblje.

Uzorci pacijenata i inokulisani reagensi su potencijalno infektivni; njima se mora rukovati oprezno, u skladu sa higijenskim pravilima i trenutnim propisima za ovaj tip proizvoda u zemlji upotrebe. Preporučuje se rad u laminarnoj komori.

Ne upotrebljavati reagense nakon datuma isteka roka upotrebe.

Reagense čuvati na temperaturi **+2 do +8°C**.

Ne upotrebljavati reagense koji su oštećeni ili nepravilno čuvani pre upotrebe.

Ne upotrebljavati bočice sa RP Medijumom na kojima postoje vidljivi znaci curenja.

Rezultat Rapid Polymyxin NP testa ukazuje na prisustvo kolistin-rezistentnih ili osetljivih *Enterobacteriaceae* u uzorku, ali se ne može koristiti samostalno za određivanje kliničke dijagnoze. Dijagnozu može utvrditi samo lekar, i ona zavisi od bioloških rezultata i kliničkih simptoma.

### 6 – SAKUPLJANJE UZORAKA

Bakterijske kolonije koje se koriste za Rapid Polymyxin NP test treba uzgajati nekom od ne-acidifikujućih medijuma kao što su Luria Bertani, Mueller-Hinton, Colombia Agar 5% sheep blood, Chocolate agar – PolyVitek, Eosin-methylene blue ili hromogeni agari. Agar medijumi za kultivaciju, kao što je Drigalski nisu pogodni za test. Za testiranje se moraju koristiti mlade kolonije (15 - 24 časa inkubacija).

Enterobacteriaceae iz uzoraka krvi se mogu testirati direktno iz aerobnih i anaerobnih hemokultura.

### 7 – PRIPREMA I ČUVANJE REAGENASA

Reagensi su spremni za upotrebu.

Pakovanje i sadržaj pakovanja su stabilni do datuma isteka roka, koji je naznačen na pakovanju, ako se čuvaju na +2+8°C.

Bočice RP Medium i RP NaCl su reagensi za jednokratnu upotrebu.

Bočica sa RP TC se koristi kao kontrola kalibracije inokulacije i mora se čuvati do inokulacije poslednje bočice sa RP Medijumom.

RP TC reagens se mora čuvati **zaštićen od sunčeve svetlosti na +2+8°C**.

### 8 – NEOPHODAN MATERIJAL KOJI NIJE OBEZBEĐEN

Otpadni kontejner za kontaminirani otpad.

Detektor turbiditeta suspenzije(denzitometar).

Pipete i nastavci.

Sertifikovani inkubator na +36°C/+/-2°C.

### 9 - METODA

#### 9.1 Testiranje kolonija koje su izolovane na pločama agara

GRAM negativni bakterijski fenotip se mora verifikovati bojenjem po Gramu. Za testiranje koristiti isključivo kolonije koje su identifikovane kao enterobakterije sa izuzetkom vrsta *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*.

Temperirati reagense na sobnu temperaturu (18 - 25 °C) 10 minuta.

Pre-inkubirati RP Medium 10 minuta na 37°C.

Ukloniti adhezivnu etiketu koja se nalazi na donjoj strani testa (bunari 1, 2 i 3).

#### Priprema negativne kontrole:

Pipetirati u bunar broj 1 (C-):

- 75  $\mu$ L nezasejanog RP Medium-a

- 25  $\mu$ L nezasejanog RP NaCl

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

- Uzorkovati tri ili četiri identične izolovane kolonije pomoću 10  $\mu$ L eze ili Pasterove pipete.

- Inokulisati bočicu sa RP NaCl zajedno sa kolonijama. Dobro promešati.

#### Standardizacija inokuluma

Preporučuje se standardizacija inokuluma pomoću denzitometra. Ipak, bočica sa RP TC je obezbeđena i može se koristiti u skladu sa dobrom praksom (odeljak RP TC).

#### -pomoću denzitometra

Utvrđiti pomoću denzitometra da je turbiditet inokulisanog medijuma između 3 i 3.5 Mac Farland-a. U obzir uzeti najmanju vrednost turbiditeta (dobijenu okretanjem test bočice u denzitometru). Ako je medijum bistriji (nedovoljan inokulum), bočicu inokulisati ponovo, dok se prozirnost ne izjednači kontroli turbiditeta. Ako je medijum zamućeniji (inokulum prebogati), razblažiti ga svežim RP NaCl iz novootvorene bočice, dok se ne postigne turbiditet između 3 i 3.5 Mc F. U ovu svrhu, u okviru pakovanja se nalaze 2 dodatne bočice RP NaCl, koje je neophodno odbaciti nakon upotrebe.

Ako obezbeđena RP NaCl bočica ne može da stane u denzitometar, preporučuje se:

- prebaciti sadržaj u epruvetu koja je kompatibilna sa aparatom,

- dobiti vrednost od 0 Mc F.

- zatim dodavati kolonije do 3-3.5 Mc F.

#### **-u odnosu na RP TC**

Metoda vizuelnog čitanja može biti subjektivna i zahteva dobru praksu, da bi se obezbedila pouzdanost procene 3-3.5 Mc F inokulisanog RP NaCl.

Da bi se garantovalo da je dobijena očekivana optička gustina inokulisanog RP NaCl, u odnos na optičku gustinu RP TC, neophodno je validirati metodu turbiditeta inokuluma.

#### **Metodologija:**

Prilagoditi prozirnost inokulisanog medijuma do prozirnosti RP TC kontrole turbiditeta uz pomoć crnih linija koje se nalaze na etiketi bočice. Ako je neophodno, prilagoditi turbiditet, na način opisan iznad.

#### **Priprema inokuluma u RP Medijumu i distribucija na test:**

Prebaciti 500 µL zasejanog NaCl rastvora u RP Medijum.

Homogenizovati zasejani RP Medijum i pipetirati:

- 100 µL u Test bunar (bunar 2) koji sadrži kolistin

- 100 µL u kontrolni bunar (bunar 3, C+) koji ne sadrži kolistin.

Pokriti zasejani bunar poklopcem.

Označiti Rapid Polymyxin NP test, radi identifikacije.

Inkubirati test na 36 ±2 °C, 2 do 3 časa.

Prvo čitanje boje se može obaviti nakon 2 časa inkubacije (o uslovima čitanja i interpretacije pogledati Odeljak 10 "Čitanje i interpretacija").

#### **9.2 Testiranje pozitivnih hemokultura**

Testiranje obavljati isključivo iz identifikovanih kolonija (pomoću MALDI TOF) enterobakterija sa izuzetkom vrsta *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii*.

Temperirati reagense na sobnu temperaturu (+18 do 25 °C) 10 minuta.

Označiti Rapid Polymyxin NP test, radi identifikacije.

Ukloniti adhezivnu nalepnicu sa bunara 1, 2, i 3.

#### **Priprema negativne kontrole:**

Pipetirati u bunar n°1 (C-):

- 75 µL nezasejanog RP MEDIUM-a

- 25 µL nezasejanog RP NaCl

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

Inokulisati RP NaCl bočicu sa 300 µL mono-mikrobijalne Enterobacteriaceae-pozitivne hemokulture.

#### **Priprema inokuluma u RP Medijumu i distribucija na test:**

Pipetirati 500 µL zasejanog RP NaCl u bočicu sa RP Medijumom i homogenizovati.

Pipetirati RP Medijum:

- 100 µL u Test bunar 2 (sadrži kolistin)

- 100 µL u bunar za kontrolu rasta (bunar 3, C+, ne sadrži kolistin)

Pokriti zasejani bunar poklopcem.

#### **Inkubirati test na 36 ±2 °C, 2 do 4 časa.**

Prvo čitanje boje se može obaviti nakon 2 časa inkubacije (o uslovima čitanja i interpretacije pogledati Odeljak 10 "Čitanje i interpretacija").

### **10 – ČITANJE I INTERPRETACIJA**

Čitanje rezultata se oslanja na identifikaciju i poređenje boje Test bunara u odnosu na C+ i C- bunare.

**Čitanje negativne kontrole (bunar sa negativnom kontrolom C-, n°1):** Bunar sa negativnom kontrolom (C-) prikazuje originalnu (narandžastu) boju Medijuma. Promena boje u Test bunaru se procenjuje poređenjem sa ovom kontrolom.

Ukoliko C- bunar oboji žuto, test nije validan. U ovom slučaju, rezultat se ne sme tumačiti, a testiranje se mora ponoviti.

#### **Validacija (bunar sa pozitivnom kontrolom C+, n°3):**

Proveriti da li je Medijum u bunaru sa kontrolom rasta (C+) požuteo.

#### **Čitanje i interpretacija Test bunara n°2:**

Promena boje Medijuma, od početno narandžaste, u narandžasto-žutu ili žutu, ukazuje da je testirani soj sposoban da raste u prisustvu kolistina koncentracije 2 µg/mL.

Međutim, ako se ne primećuje promena boje, rast soja je inhibiran kolistinom koncentracije 2 µg/mL.

#### **Inokulum iz izolovanih kolonija**

Nakon 2 časa inkubacije, može se obaviti prvo čitanje boje.

Ako je Medijum u bunaru sa pozitivnom kontrolom C+ (well n°3) žute boje, čitati Test bunar:

1) Ako je TEST bunar žute boje (ili žuto-narandžaste, i bistriji je od bunara sa negativnom kontrolom C- n°1), soj je rezistentan na kolistin.

2) Ako je TEST bunar narandžaste boje (i intenzitet narandžaste boje je jednak intenzitetu u bunaru sa negativnom kontrolom C-, n°1), nastaviiti inkubaciju još 1 čas, a zatim ponovo čitati test.

Finalni rezultat se dobija nakon 3 časa inkubacije.

#### **Inokulum iz pozitivnih hemokultura**

Prvo čitanje boje se može obaviti nakon 2 časa inkubacije.

Ako je Medijum u bunaru sa pozitivnom kontrolom C+ (well n°3) žute boje, čitati Test bunar:

1) Ako je TEST bunar žute boje (ili žuto-narandžaste, i bistriji je od bunara sa negativnom kontrolom C- n°1), soj je rezistentan na kolistin.

2) Ako je TEST bunar narandžaste boje (i intenzitet narandžaste boje je jednak intenzitetu u bunaru sa negativnom kontrolom C-, n°1), nastaviiti inkubaciju još 2 časa, a zatim ponovo čitati test.

U CLSI smernicama (4-5) nije dostupna kritična koncentracija *Enterobacteriaceae*. Stoga, sojevi su kategorisani kao kolistin -osetljivi ili -rezistentni u skladu sa EUCAST kriterijumima interpretacije (6):

- Soj *Enterobacteriaceae* sa MIC kolistina ≤ 2 µg/mL je kategorisan kao osetljiv (inhibiran bakterijski rast; narandžasta boja Medijuma).

Soj *Enterobacteriaceae* sa MIC kolistina > 2 µg/mL je kategorisan kao rezistentan (bakterijski rast nije inhibiran; žuto-narandžasta ili žuta boja Medijuma).

### **11 – KONTROLA KVALITETA**

Kontrola kvaliteta se može izvršiti referentnim sojevima:

- *Escherichia coli* ATCC 25922, kolistin-osetljiv soj nakon 2 časa inkubacije (narandžast C- bunar, **narandžast Test bunar**, žut bunar sa pozitivnom kontrolom C+)

- *Proteus mirabilis* ATCC 25933 kolistin-rezistentan soj nakon 2 časa inkubacije (narandžast C- bunar, **žut Test bunar**, žut bunar sa pozitivnom kontrolom C+).

- *Escherichia coli* NCTC 13846 (mcr1-pozitivna), kolistin-rezistentan soj nakon 2 časa inkubacije (narandžast C- bunar, **žut Test bunar**, žut bunar sa pozitivnom kontrolom C+).

### **12 – UZROK GREŠAKA I POSEBNI SLUČAJEVI**

Zasejavanje bunara se mora izvršiti do 60 minuta nakon pripreme bakterijske suspenzije u RP NaCl rastvoru i provere turbiditeta (3-3.5 McFarland).

Čitanje i tumačenje rezultata se ne sme obavljati ako se promena boje u bunaru sa pozitivnom kontrolom (C+) dogodi pre prva 2 časa inkubacije.

Rano čitanje boje (npr. čitanje pre prva 2 časa inkubacije) može da dovede do nepravilnog tumačenja, kao što je lažno-osetljiv rezultat za rezistentan soj.

Ako bunar sa pozitivnom kontrolom C+ (n°3) ne pokazuje promenu boje nakon 2 časa inkubacije, ne može se tumačiti rezultat testa. Neophodno je ponoviti testiranje.

Kod finalnog čitanja testa, voditi računa da se ne premaši naznačeno vreme inkubacije, koje iznosi 3 časa za testove iz izolovanih kolonija, a 4 časa za testove iz pozitivnih hemokultura.

Za hemokulture, od suštinske je važnosti poštovati vreme inkubacije 2 do 4 časa.

U slučaju RP NP testa iz hemokulture koja sadrži istovremeno prisustvo osetljivog i rezistentnog soja iste vrste enterobakterija, prisustvo osetljivog soja ne maskira detekciju kolistin-rezistentnog soja. Prisustvo kolistin-osetljivog soja enterobakterija može da maskira detekciju rezistencije drugog prirodno rezistentnog soja, koji je takođe prisutan u hemokulturi.

Uzorke krvi testirati iz monomikrobijalnih hemokultura.

### **13 – OGRANIČENJA PROCEDURE**

Bakterijske kolonije koje se kultiviraju u acidifikujućim medijumima kao što su Drigalski, Mac Conkey i bromokrezol ljubičasto (BCP) agari, nisu kompatibilni sa proizvodom Rapid Polymyxin NP test. Subkulture u odgovarajućim medijumima (pogledati Odeljak 6. "Sakupljanje uzoraka") su neophodne pre testiranja.

Prilikom zasejavanja iz pozitivnih hemokultura, može doći do sedimentacije crvenih krvnih zrnaca na dnu bunara, što ne utiče na interpretaciju promene boje.

Prilikom izvođenja testa iz izolovanih kolonija, performanse testa su garantovane, ako je inokulum pravilno standardizovan između 3 i 3.5 Mc F.

Limit detekcije (analitička osetljivost) iznosi 10<sup>7</sup> CFU/mL; ovo odgovara minimalnoj koncentraciji bakterija koja je potrebna za detekciju kolistin-rezistentnih sojeva u hemokulturi. Bakterijska gustina manja od 10<sup>7</sup> CFU/mL u hemokulturi može dovesti do lažno-negativnih rezultata.

### **14 - PERFORMANSE**

#### **14-1 Performanse testa iz izolovanih kolonija**

Procena performansi proizvoda Rapid Polymyxin NP test je obavljena u Jedinici za Pojavu Antibiotске Rezistencije (Emerging Antibiotic Resistance Unit, INSERM, Faculty of Sciences, University of Fribourg, Švajcarska), u poređenju sa metodom za određivanje Minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) u tečnom medijumu (mikrodilucija Mueller-Hinton katjon-prilagođene podloge – u skladu sa smernicama Clinical Laboratory Standard Institute (3,4), opisana kao referentna metoda).

Bakterije koje su korišćene u studiji predstavljaju različite, internacionalne, kliničke uzorke, i uključuju sledeće vrste:

Vrsta	Broj testiranih	Vrsta	Broj testiranih	Vrsta	Broj testiranih
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	113	<i>Enterobacter absuriae</i>	2	<i>Proteus stuartii</i>	1
<i>Escherichia coli</i>	40	Morganella morgani	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 sojeva Enterobacteriaceae su odabrani kao najreprezentativniji. Od njih je 78 senzitivno, a 141 rezistentno na kolistin. Kod rezistentnih sojeva, primećeni su različiti mehanizmi rezistencije na polimiksine (hromozomski, plazmidski, urođeni, ili nepoznati). MIC vrednosti sojeva i mehanizmi rezistencije su sledeći:

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

Mehanizmi rezistencije			Broj sojeva
Urođena (prirodna) rezistencija			10
Stečena rezistencija	Hromozomska	heterorezistencija	2
		mutacija gena MgrB	70
		mutacija gena PhoP or Q	2
		mutacija gena PmrA or B	10
	Plazmidiska	mutacija gena mcr -1	30
Nepoznat mehanizam			17

Bakterijski sojevi su ponovo izolovani u agaru (Luria Bertani, Mueller Hinton, Columbia 5 % blood) 18 – 24 časa, da bi se testirali pomoću Rapid Polymyxin NP paralelno sa određivanjem MIC tehnikom CLSI mikro-dilucije.

The Rapid Polymyxin NP test je čitan nakon 2 i 3 časa inkubacije. Procenat kliničke saglasnosti Rapid Polymyxin NP testa iznosi 97.7% u poređenju sa MIC metodom u tečnom medijumu. Osetljivosti testa iznosi 99.3%, a specifičnost 94.9%.

Postojalo je 4 značajne nesaglasnosti (Major Discordance, MD) (MIC 1-2 µg/mL) i 1 veoma značajna (VMD) (*Klebsiella pneumoniae* soj sa MIC 8 µg/mL, nepoznat mehanizam rezistencije). Procenat kliničke saglasnosti, u okviru 1 razblaženja, iznosi 99.1 %. 1 MD i 1 VMD ostaju.

U vezi sa vremenom inkubacije, svi sojevi su dali čitljive rezultate nakon 2 časa. Šta više, profil osetljivih sojeva je stabilan nakon 3 časa inkubacije.

## 14-2 Performanse testa iz hemokulture

Ukupne performase su dobijene kombinovanjem oba tipa protokola iz hemokulture:

Performanse	Kliničke hemokulture	"Spiked" hemokulture	Ukupno
Osetljivost	66,7%	98%	96,3%
Specifičnost	100%	100%	100%

\*spiked – hemokultura obogaćena kolistin-rezistentnim sojem.

## Performanse testa iz kliničke hemokulture

U laboratoriji Pr. G. Greub (CHUV Lozana, Švajcarska) testirano je 27 kliničkih hemokultura iz aerobnih i anaerobnih boca (BD BACTEC™ Plus Aerobic/F i Plus Anaerobic/F Medium plastične boce), detektovanih automatskim sistemom Becton Dickinson FX.

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

Dva prirodno rezistentna soja (*Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*) su dala konkordantne pozitivne rezultate tokom inkubacije do 4 časa za sve aerobne i anaerobne uslove kulture.

Jedan kolistin-rezistentni soj *Klebsiella pneumoniae* (MIC = 8 mg/L) nije detektovan (lažno negativan rezultat) tokom inkubacije do 4 časa.

Za kliničke hemokulture, osetljivost testa iznosi 66.7%, a specifičnost 100%.

Bakterijska goustina svih testiranih hemokultura u ovoj studiji iznosila je  $\geq 10^7$  CFU/mL, s izuzetkom 2 anaerobne boce sa koncentracijom  $10^6$  CFU/mL.

## Performanse testa iz "spiked" hemokultura

Da bi se testiralo više rezistentnih sojeva, testirane su "spiked" hemokulture (CHUV, Švajcarska).

Od 72 testirana soja, 51 je bio rezistentan (različiti genotipovi rezistencije) a 21 osetljiv na kolistin. Za svaki soj, testirane su i aerobne i anaerobne boce.

Primećeno je samo jedno neslaganje, kod *E. coli* MCR-1 soja (lažno negativan rezulttat).

Za "spiked" hemokulture, osetljivost testa iznosi 98%, a specifičnost 100%.

## 15 – UKLANJANJE OTPADA

Otpad ukloniti u skladu sa higijenskim pravilima i važećim propisima za ovaj tip proizvoda u zemlji upotrebe.

## 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. 9th ed. Document M07–A9. Wayne (PA): The Institute; 2012 June 2015.

5 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for anti- microbial susceptibility testing: 24th informational supplement. Document M100– S24. Wayne (PA): The Institute; 2014.

6 - Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recom- mandations 2015. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, V1.0 janvier 2015.

Izvršene promjene Verzije u odnosu na prethodnu verziju su istaknute u sivoj boji.

**ELITech MICROBIO**  
 Parc d'activités du Plateau  
 allée d'Athènes  
 83870 SIGNES  
 FRANCE  
 ☎: 33 (0)4 94 88 55 00  
 ✉: 33 (0)4 94 32 82 61  
<http://www.elitechgroup.com>

