

## HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

**Thuốc thử xét nghiệm tính nhạy cảm với kháng sinh của *Enterococci*  
và *Streptococci* (nhóm A, B, C, G và *S. pneumoniae*)**

**MIC G+**

**Mã sản phẩm:** MLT00043

**Quy cách đóng gói:**

Bộ kit chứa:

- 10 đĩa xét nghiệm
- Nắp đậy (không vô trùng)
- 10 túi PE

**Hạn sử dụng:** 18 tháng

**Cơ sở sản xuất:** Erba Lachema s.r.o

**Địa chỉ:** Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, Cộng hòa Séc



**Mã sản phẩm: MLT00043**

**Dùng cho vi sinh**

Bộ kit được thiết kế để kiểm tra tính nhạy cảm với kháng sinh của cầu khuẩn đường ruột (*Enterococci*) và liên cầu khuẩn (*Streptococci* - nhóm A, B, C, G và *S. pneumoniae*) trên cơ sở xác định nồng độ ức chế tối thiểu (MIC), nghĩa là nồng độ thấp nhất có thể ức chế sự phát triển của vi khuẩn. Bộ kit gồm 10 xét nghiệm (10 đĩa). Xét nghiệm dựa trên sự tái hydrat hóa của kháng sinh trong các giếng bằng môi trường huyền phù (suspension medium) và hỗn dịch vi khuẩn. Kết quả được đọc bằng mắt thường hoặc bằng máy đọc sau 16-20 giờ ủ.

**Kit gồm:**

- 10 đĩa xét nghiệm
- Nắp đậy (không vô trùng)
- 10 túi PE

**Bảo quản và hạn sử dụng của kit:**

Khuyến cáo bảo quản bộ kit ở 2-25°C. Hạn sử dụng được in trên mỗi gói. Cần đặt đĩa ở nhiệt độ phòng tối thiểu 30 phút trước khi mở để tránh ngưng tụ nước. Sau khi mở gói nhôm, không được để đĩa mở mà không có vật che đậy!!! Việc tiếp xúc với độ ẩm không khí có thể làm mất hoạt tính của kháng sinh!!!

**Vật liệu cần để thực hiện xét nghiệm, không được cung cấp kèm theo kit:**

- Môi trường huyền phù MIC G+ (mã MLT00071) hoặc môi trường MHB bổ sung máu ngựa ly giải và β-NAD (môi trường canh thang MH-F), xem thêm tại [www.eucast.org](http://www.eucast.org)
- Dung dịch sinh lý vô trùng (không đệm)
- Ethanol
- Ống nghiệm vô trùng
- Thiết bị cấy ErbaDip (mã 50004456)
- Đĩa petri vô trùng
- Bồn đựng hóa chất vô trùng 60 ml (mã 50004457)
- Pipet hút theo liều (pipet stepper) hoặc pipet đa kênh (multichannel pipette) hút được liều lượng 100 µl
- Pipet hút được liều lượng từ 60-100 µl
- Thiết bị đo độ đục (ví dụ DENSILAMETER II, mã INS00062)
- Máy ủ/tủ ấm 35±2°C
- Thiết bị phòng thí nghiệm vi sinh thông thường (que cấy vòng, bút đánh dấu, đèn cồn...)

**Thận trọng: Bộ kit được dùng cho mục đích chuyên môn! Tuân thủ các quy tắc khi làm việc với vật liệu lây nhiễm!**

**Hướng dẫn sử dụng**

**Chuẩn bị hỗn dịch vi khuẩn và cấy (Quy trình được khuyến cáo):**

**A) Cấy bằng thiết bị cấy**

- 1) Lấy đĩa ra khỏi túi nhôm và gỡ lớp màng nhôm. Đánh dấu tên loại kit (G+) lên khung để tránh nhầm lẫn khi đọc kết quả sau ủ. Ghi số của chủng kiểm tra trên đĩa. Đổ đầy 100 µl môi trường Suspension medium MIC G+ vào từng giếng.
- 2) Chuẩn bị một ống nghiệm chứa 12 ml dung dịch sinh lý. Khi cấy bằng thiết bị cấy, thêm 100 µl môi trường Suspension medium MIC G+ để giảm sức căng bề mặt.
- 3) Lấy một ít khuẩn lạc từ mé cây 18-24 giờ trên thạch máu và chuẩn bị hỗn dịch vi khuẩn trong dung dịch sinh lý, huyền phù có mật độ bằng 0,5 McFarland đối với cầu khuẩn đường ruột (*Enterococci*) và 1,0 McFarland đối với liên cầu khuẩn (*Streptococci*).
- 4) Đổ hỗn dịch vi khuẩn vào đĩa petri vô trùng.
- 5) Sử dụng thiết bị cấy vô trùng để cấy đĩa: nhúng thiết bị cấy vào đĩa petri chứa cồn và đốt. Sau đó, nhúng thiết bị cấy đã được làm nguội vào đĩa petri chứa hỗn dịch vi khuẩn đã chuẩn bị. Hỗn dịch vi khuẩn sẽ hình thành lớp màng mỏng bám vào các gai kim loại của thiết bị. Chuyển chúng cây vào số giếng ở nửa đầu của đĩa bằng cách nhúng thiết bị vào các giếng và trộn cẩn thận. Thực hiện lần nhúng nữa vào đĩa petri chứa dịch khuẩn và cấy vào số giếng ở nửa sau của đĩa.

**B) Cấy bằng pipet**

- 1) Chuẩn bị một ống nghiệm chứa 2 ml dung dịch sinh lý.
- 2) Lấy một ít khuẩn lạc từ mé cây 18-24 giờ trên thạch máu và chuẩn bị hỗn dịch vi khuẩn trong dung dịch sinh lý, hỗn dịch phải đạt mật độ bằng 0,5 trên thang McFarland.
- 3) Lấy 60 µl hỗn dịch vi khuẩn vào ống nghiệm chứa 13 ml môi trường Suspension medium MIC và dàn đều.
- 4) Lấy đĩa ra khỏi túi nhôm và gỡ lớp màng nhôm ra khỏi đĩa. Đánh dấu tên loại kit (G+) lên khung để tránh nhầm lẫn khi đọc kết quả sau ủ. Ghi số của chủng kiểm tra lên đĩa.
- 5) Cấy từng giếng của đĩa với 100 µl hỗn dịch vi khuẩn chuẩn bị trong môi trường Suspension medium MIC. **Lưu ý:** Xử lý đĩa trong vòng 60 phút sau khi lấy ra khỏi túi nhôm.

Ủ: Đặt các đĩa đã cấy vào khung và đưa vào túi PE. Gấp phần đầu mở của túi xuống phía dưới đĩa để tránh bay hơi trong quá trình ủ. Ủ đĩa ở 35±2°C trong 16-20 giờ. Đĩa chứa cầu khuẩn đường ruột được ủ trong vòng 24 giờ trước khi đọc kết quả vancomycin.

**Đánh giá:**

Lấy đĩa ra khỏi túi PE. Chọn cách thuận tiện nhất để đọc sự phát triển của vi khuẩn trong vi giếng:

- 1) Đọc trên nền xám hoặc dựa theo bố cục đĩa đọc mô tả trong hướng dẫn sử dụng.
- 2) Đọc dưới ánh sáng phân tán tự nhiên hoặc nhân tạo.
- 3) Không khuyến cáo sử dụng kính lúp.
- 4) Đánh giá xét nghiệm bằng cách dùng máy đọc và phần mềm định danh.

**Chú ý:**

Phải thấy được sự phát triển của vi khuẩn trong giếng đối chứng (giếng K)! Nếu không có dấu hiệu sinh trưởng, KHÔNG THỂ đánh giá xét nghiệm! MIC là nồng độ kháng sinh thấp nhất trong một giếng mà không quan sát thấy sự sinh trưởng của vi khuẩn ở đó. Ngoại trừ: đối với Trimethoprim/sulfamethoxazole, đọc MIC ở giếng mà vi khuẩn bị ức chế ≥ 80% khi so sánh với giếng chứng vi khuẩn. Cẩn thận phân biệt các khuẩn vi khuẩn với bọt khí của môi trường. Ghi lại các kết quả.

**Bảng 1: Bố cục đĩa: dãy pha loãng các kháng sinh (tính bằng mg/l)**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	PEN	AMP	ERY	CLI	LIZ	CMP	TET	T/S	GEN	VAN	TEC	NFT
<b>A</b>	8	16	8	16	16	32	32	4/76	128	16	16	128
<b>B</b>	4	8	4	8	8	16	16	2/38	16	8	8	64
<b>C</b>	2	4	2	4	4	8	8	1/19	8	4	4	32
<b>D</b>	1	2	1	2	2	4	4	0,5/9,5	4	2	2	16
<b>E</b>	0,5	1	0,5	1	1	2	2	0,25/4,75	2	1	1	8
<b>F</b>	0,25	0,5	0,25	0,5	0,5	1	1	0,12/2,38	1	0,5	0,5	4
<b>G</b>	0,12	0,25	0,12	0,25	0,25	0,5	0,5	0,06/1,19	0,5	0,25	0,25	2
<b>H</b>	0,06	0,12	0,06	0,12	0,12	0,25	0,25	0,03/0,6	0,25	0,12	0,12	K

**Bảng 2: Giá trị breakpoint MIC (Điểm nhạy cảm – giới hạn) lâm sàng (mg/l) đối với cầu khuẩn đường ruột và liên cầu khuẩn theo EUCAST (1)**

Kháng sinh	Viết tắt.	Cầu khuẩn đường ruột			Liên cầu khuẩn		
		Nhạy cảm S	Trung gian I	Kháng R	Nhạy cảm S	Trung gian I	Kháng R
Penicillin	PEN	-	-	-	≤0,25 nhóm A,B,C,G		≥0,5 gr. A,B,C,G
					≤0,06 <i>S. pneumoniae</i>	0,12-2 <i>S. pneumoniae</i>	≥4 <i>S. pneumoniae</i>
					≤0,06 <i>S. pneumoniae</i> (viêm màng não)		≥0,12 <i>S. pneumoniae</i> (viêm màng não)

Ampicillin	AMP	≤4	8	≥16	≤0,5 <i>S. pneumoniae</i>	1-2 <i>S. pneumoniae</i>	≥4 <i>S. pneumoniae</i>
Erythromycin	ERY	-	-	-	≤0,25	0,5	≥1
Clindamycin	CLI	-	-	-	≤0,5		≥1
Linezolid	LIZ	≤4		≥8	≤2		≥4
Chloramphenicol	CMP	-	-	-	≤8		≥16
Tetracycline	TET	-	-	-	≤1	2	≥4
*Trimethoprim / sulfamethoxazole	T/S				≤1/19	2/38	≥4/76
Gentamicin (kiểm tra tính kháng aminoglycoside ở mức độ cao)*	GEN				-	-	-
Vancomycin	VAN	≤4		≥8	≤2		≥4
Teicoplanin	TEC	≤2		≥4	≤2		≥4
Nitrofurantoin	NFT	≤64 <i>E. faecalis</i>		≥128 <i>E. faecalis</i>	≤64 <i>S. agalactiae</i>		≥128 <i>S. agalactiae</i>

\**E. faecalis* và *E. faecium* ECOFF = 1

\*MIC ≤128 = xét nghiệm âm tính

MIC ≥256 = xét nghiệm dương tính

Xem thêm tại [www.eucast.org](http://www.eucast.org)

**Bảng 3: Giá trị breakpoint MIC (điểm nhạy cảm – giới hạn) lâm sàng (mg/l) đối với cầu khuẩn đường ruột và liên cầu khuẩn theo CLSI (2)**

Kháng sinh	Viết tắt	Cầu khuẩn đường ruột			Liên cầu khuẩn		
		Nhạy cảm S	Trung gian I	Kháng R	Nhạy cảm S	Trung gian I	Kháng R
Penicillin	PEN	≤8		≥16	≤0,12 Nhóm A,B,C,G		- Nhóm A,B,C,G
					≤2 <i>S. pneumoniae</i>	4 <i>S. pneumoniae</i>	≥8 <i>S. pneumoniae</i>
					≤0,06 <i>S. pneumoniae</i> (viêm màng não)	- <i>S. pneumoniae</i> (viêm màng não)	≥0,12 <i>S. pneumoniae</i> (viêm màng não)
Ampicillin	AMP	≤8		≥16	≤0,25 Nhóm A,B,C,G		
Erythromycin	ERY	≤0,5	1-4	≥8	≤0,25	0,5	≥1
Clindamycin	CLI				≤0,25	0,5	≥1
Linezolid	LIZ	≤2	4	≥8	≤2		-
Chloramphenicol	CMP	≤8	16	≥32	≤4 Nhóm A,B,C,G	8 Nhóm A,B,C,G	≥16 Nhóm A,B,C,G
					≤4 <i>S. pneumoniae</i>		≤8 <i>S. pneumoniae</i>
Tetracycline	TET	≤4	8	≥16	≤2 Nhóm A,B,C,G	4 Nhóm A,B,C,G	≥8 Nhóm A,B,C,G
					≤1 <i>S. pneumoniae</i>	2 <i>S. pneumoniae</i>	≥4 <i>S. pneumoniae</i>
Trimethoprim / sulfamethoxazole	T/S				≤0,5/9,5 <i>S. pneumoniae</i>	1/19-2/38 <i>S. pneumoniae</i>	≥4/76 <i>S. pneumoniae</i>
Gentamicin	GEN						
Vancomycin	VAN	≤4	8-16	≥32	≤1		-
Teicoplanin	TEC	≤8	16	≥32			
Nitrofurantoin	NFT	≤32	64	≥128			

Dựa theo ATU (Phạm vi không đảm bảo kỹ thuật), trước khi diễn giải kết quả cần:

- Lập lại xét nghiệm
  - Sử dụng một xét nghiệm thay thế
  - Hạ thấp phân loại nhạy cảm
  - Đưa độ không đảm bảo vào như một phần của báo cáo
- Xem thêm tại [www.eucast.org](http://www.eucast.org)

**Diễn giải:** Các chủng kiểm tra được phân loại là nhạy cảm – trung gian – kháng một kháng sinh cụ thể trên cơ sở xác định MIC. Việc phân loại này dựa theo EUCAST (1) hoặc theo tài liệu M100 của CLSI (2)

**Cầu khuẩn đường ruột:** Ampicillin: Kết quả có thể sử dụng cho amoxicillin, amoxicillin/clavulanate, ampicillin/sulbactam, piperacillin, piperacillin/tazobactam.

**Liên cầu khuẩn:** Penicillin: Tính nhạy cảm của liên cầu khuẩn nhóm A, B, C, G với beta-lactam (kể cả ampicillin) được suy ra từ tính nhạy cảm của chúng với penicillin. Các chủng kháng penicillin rất hiếm hoặc chưa được mô tả, do đó các chủng này nên được chuyển đến phòng thí nghiệm tham chiếu. Liên cầu khuẩn tan huyết beta không sản xuất beta-lactamase, do đó sự kết hợp của chúng với các chất ức chế không mang lại bất kỳ lợi ích nào. Giá trị breakpoint (điểm nhạy cảm – giới hạn) với các kháng sinh penicillin (ngoại trừ benzylpenicillin) chỉ liên quan đến các chủng phân lập không gây bệnh viêm màng não.

**Erythromycin:** Kết quả có thể giải thích cho pro azithromycin, clarithromycin và roxithromycin.

**Clindamycin:** Nếu chủng kháng erythromycin và nhạy cảm với clindamycin (hoặc đề kháng trung gian với clindamycin), cần xác định sự kích hoạt kháng clindamycin bằng cách kiểm tra đối kháng hoạt tính clindamycin bằng macrolid. Nếu không phát hiện sự đối kháng, báo cáo là nhạy cảm với clindamycin. Ngược lại nếu phát hiện sự đối kháng, báo cáo là kháng clindamycin kèm chú giải theo khuyến cáo của EUCAST (1) hoặc theo tài liệu M100 của CLSI (2).

**Teicoplanin:** Nếu kết quả là kháng, cần thực hiện một xét nghiệm khác để khẳng định và chuyển đến phòng thí nghiệm tham chiếu. Các chủng kháng kháng sinh này

đều hiếm.

Các tiêu chí diễn giải khác phải được dùng dựa trên các tiêu chuẩn quốc gia và tiêu chuẩn phòng thí nghiệm, ví dụ như tài liệu EUCAST Expert rules (3) hoặc tài liệu M100 (2) và tài liệu M07 (4) của CLSI. Khi diễn giải kết quả, cần xem xét các thông số sau đây: kết quả định danh loài, nguồn gốc của mẫu, bệnh sử của bệnh nhân, hoặc kết quả của các xét nghiệm bổ sung.

**Kiểm soát chất lượng:** Khuyến cáo rằng những chủng đối chứng dưới đây chỉ dùng cho việc nội kiểm tra chức năng của kháng sinh trong phòng thí nghiệm. Cần tuân thủ tiêu chuẩn EUCAST hoặc CLSI khi tiến hành đánh giá kết quả. Sử dụng các chủng mới phân lập để kiểm tra chất lượng.

CCM 4224 <i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 29212)												
MIC (mg/l)												
PEN 1-4	AMP 0,5-2	ERY 1-4	CLI 4-16	LIZ 1-4	CMP 4-16	TET 8-32	T/S ≤0,5/9,5	GEN 4-16	VAN 1-4	TEC 0,25-1	NFT 4-16	

  

CCM 4501 <i>Streptococcus pneumoniae</i> (ATCC 49619)												
MIC (mg/l)												
PEN 0,25-1	AMP 0,06-0,25	ERY 0,03-0,12	CLI 0,03-0,12	LIZ 0,25-2	CMP 2-8	TET 0,06-0,5	T/S 0,12/2,4-1/19	GEN -	VAN 0,12-0,5	TEC -	NFT 4-16	

ATCC – Ngân hàng chủng chuẩn Hoa Kỳ

CCM – Viện Bảo tàng giống vi sinh vật Séc, Đại học Masaryk, Khoa Khoa học, Kamenice 5, tòa nhà A25, 625 00 Brno, CH Séc

Số điện thoại: +420 549 491 430, Fax +420 549 498 289, <http://www.sci.muni.cz/ccm>, e-mail: [ccm@sci.muni.cz](mailto:ccm@sci.muni.cz)

**Bảo vệ sức khỏe:** Các thành phần của bộ kit không chứa các chất nguy hiểm.

**Thải bỏ vật liệu đã sử dụng:** Đặt đĩa đã dùng vào bình chứa vật liệu lây nhiễm và hấp khử trùng hoặc đốt nó. Rác thải giấy có thể được tái chế.

**Tài liệu tham khảo:**

- (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 document 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 document M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

**KÝ HIỆU ĐÃ DÙNG**

**REF** Số catalogue

**IVD** Chẩn đoán in vitro

Nhà sản xuất

Xem hướng dẫn sử dụng

**LOT** Số lô

Nhiệt độ bảo quản

Hạn sử dụng

Ngày cập nhật: 5. 3. 2020

M-MIC/PI/03/20/J/INT

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ

e-mail: [diagnostics@erbalachema.com](mailto:diagnostics@erbalachema.com), [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com)