

HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Thuốc thử xét nghiệm tính nhạy cảm với kháng sinh của
Enterobacteriaceae

MIC G-I

Mã sản phẩm: MLT00044

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: MLT00044

Dùng cho vi sinh

Bộ kit được thiết kế để kiểm tra tính nhạy cảm với kháng sinh của các vi khuẩn thuộc họ *Enterobacteriaceae* 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 canh thang Mueller Hinton II và bổ sung thêm hỗn dịch vi khuẩn. Kết quả được đọc bằng mắt thường hoặc bằng máy đọc sau 16-20 giờ ủ. Khuyến cáo nên sử dụng MIC G-I cùng với MIC G-II để kiểm tra tính nhạy cảm với các kháng sinh dùng trong điều trị các bệnh nhiễm trùng nặng, đặc biệt ở các bệnh nhân nhập viện.

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 và gỡ bỏ lớp màng 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:

- Dung dịch sinh lý vô trùng (không đệm)
- Môi trường Mueller Hinton II đã điều chỉnh cation (Ví dụ: *Suspension medium MIC*, mã MLT00070)
- 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 60-100 µl
- Máy 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 khuyến cáo):

A) Cấy bằng thiết bị cấy

- 1) Lấy đĩa ra khỏi túi nhôm và gỡ lớp màng nhôm ra. Đánh dấu tên loại kit (G-I) lên khung để tránh nhầm lẫn khi đọc kết quả sau ủ. Ghi số của chủng kiểm tra lên đĩa. Đổ đầy 100 µl môi trường *Suspension medium MIC* vào từng giếng.
- 2) Chuẩn bị một ống nghiệm vô trùng chứa 12 ml dung dịch sinh lý. Thêm 100 µl môi trường *Suspension medium MIC* để giảm sức căng bề mặt.
- 3) Lấy một ít khuẩn lạc từ mẻ cấy 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.
- 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 nó. 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 chủng cấy vào số giếng ở nửa đầu của đĩa bằng cách nhúng thiết bị vào các giếng và trộn cẩn thận. Thực hiện lần nhúng mới 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 mẻ cấy 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 chứa 13 ml môi trường *Suspension medium MIC*, dàn đều.
- 4) Lấy đĩa ra khỏi túi nhôm và gỡ lớp màng nhôm ra khỏi đĩa. Đánh dấu tên loại kit (G-I) 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.

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 được 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/sulfamethoxazol, đọc MIC ở giếng mà vi khuẩn bị ức chế ≥ 80% khi so sánh với giếng chứng vi khuẩn. Có thể có sự sinh trưởng rất yếu trong giếng Colistin, hiện tượng này cũng có thể coi là dương tính. Trong trường hợp nghi ngờ, sử dụng thiết bị ErbaScan để đọc. Cần 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
	AMP	AMS	CFZ	CXM	AZT	GEN	AMK	COL	T/S	CIP	CMP	TET
A	128	128/64	16	64	16	32	64	16	4/76	8	32	32
B	64	64/32	8	32	8	16	32	8	2/38	4	16	16
C	32	32/16	4	16	4	8	16	4	1/19	2	8	8
D	16	16/8	2	8	2	4	8	2	0,5/9,5	1	4	4
E	8	8/4	1	4	1	2	4	1	0,25/4,75	0,5	2	2
F	4	4/2	0,5	2	0,5	1	2	0,5	0,12/2,38	0,25	1	1
G	2	2/1	0,25	1	0,25	0,5	1	0,25	0,06/1,19	0,12	0,5	0,5
H	1	1/0,5	0,12	0,5	0,12	0,25	0,5	0,12	0,03/0,6	0,06	0,25	K

Bảng 2: Giá trị breakpoint MIC (điểm nhạy cảm – giới hạn) lâm sàng (tính bằng mg/l) đối với Enterobacteriaceae

Kháng sinh	Viết tắt	EUCAST			CLSI		
		Nhạy cảm S	Trung gian I	Kháng R	Nhạy cảm S	Trung gian I	Kháng R
Ampicillin	AMP	≤8		≥16	≤8	16	≥32
Ampicillin / sulbactam	AMS	≤8/4		≥16/4	≤8/4	16/8	≥32/16
Cefazolin (nhiễm trùng bắt đầu từ đường tiết niệu) <i>E. coli</i> và <i>Klebsiella spp.</i> (ngoại trừ <i>K. aerogenes</i>)	CFZ	≤0,001	0,002-4	≥8	≤2	4	≥8
Cefuroxim parenteral <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> (ngoại trừ <i>K. aerogenes</i>), <i>Raoultella spp.</i> và <i>P. mirabilis</i>	CXM	≤0,001	0,002-8	≥16	≤8	16	≥32
Cefuroxime oral (UTI không phức tạp) <i>E. coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> (ngoại trừ <i>K. aerogenes</i>), <i>Raoultella spp.</i> và <i>P. mirabilis</i>		≤8		≥16	≤4	8-16	≥32
Aztreonam	AZT	≤1	2-4	≥8	≤4	8	≥16
Gentamicin (nhiễm trùng hệ thống)	GEN	(≤2)		(≥4)			
Gentamicin (nhiễm trùng bắt đầu từ đường tiết niệu)		≤2		≥4	≤4	8	≥16
Amikacin (nhiễm trùng hệ thống)	AMK	(≤8)		(≥16)			
Amikacin (nhiễm trùng bắt đầu từ đường tiết niệu)		≤8		≥16	≤16	32	≥64
Colistin	COL	≤2	≤2	≥4			≥4
Trimethoprim / sulfamethoxazol	T/S	≤2/38	4/76	≥8/152	≤2/38		≥4/76
Ciprofloxacin	CIP	≤0,25	0,5*	≤1	≤0,25	0,5	≥1
Ciprofloxacin, <i>Salmonella spp.</i>		≤0,06		≥0,12	≤0,06	0,12-0,5	≥1
Chloramphenicol	CMP	≤8		≥16	≤8	16	≥32
Tetracycline	TET	-	-	-	≤4	8	≥16

* 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

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 bảng giá trị breakpoint của EUCAST (1) hoặc theo tài liệu M100 của CLSI (2)

- Sự kháng CXM, CFZ, AZT cho thấy khả năng sinh ESBL của vi khuẩn thử nghiệm. Khuyến cáo thực hiện các xét nghiệm khẳng định theo tài liệu hướng dẫn của EUCAST (3) hoặc tài liệu M100 của CLSI (2).
- Cần điều chỉnh đúng tính nhạy cảm với các kháng sinh betalactam của một số chủng (chủ yếu là *Enterobacter spp.*, *Citrobacter spp.*, *Klebsiella spp.*, *Serratia spp.*) thành kháng kháng sinh dựa theo khả năng kháng thuốc tự nhiên của chúng. Trong trường hợp này, betalactamase không được sản xuất với số lượng đủ lớn trong ống nghiệm.
- Các chủng *Proteus spp.*, *Morganella morganii* và *Providentia spp.* về bản chất đều KHÁNG COLISTIN.
- Aminoglycosid (EUCAST) – đối với nhiễm trùng hệ thống, aminoglycosid phải được dùng kết hợp với liệu pháp điều trị hữu hiệu khác. Trong trường hợp này, các giá trị breakpoint (điểm nhạy cảm – giới hạn) trong ngoặc có thể được dùng để phân biệt các vi sinh vật có và không có cơ chế đề kháng mắc phải. Đối với các chủng phân lập không có cơ chế đề kháng, trong báo cáo cần đưa vào thêm một chú giải: "Aminoglycosid thường được dùng kết hợp với các tác nhân khác, để hỗ trợ hoạt động của aminoglycosid hoặc mở rộng phổ điều trị. Ở các bệnh nhiễm trùng hệ thống, aminoglycosid phải được hỗ trợ bởi liệu pháp điều trị hữu hiệu khác". 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 (4) hoặc tài liệu M100 (2) và tài liệu M07 (5) của CLSI. Khi diễn giải kết quả, cần xem xét thêm 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 đánh giá kết quả. Các chủng mới phân lập phải được dùng để kiểm tra chất lượng.

CCM 3954 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)											
MIC (mg/l)											
AMP	AMS	CFZ	CXM	AZT	GEN	AMK	COL	T/S	CIP	CMP	TET
2-8	2/1-8/4	1-4	2-8	0,06-0,25	0,25-1	0,5-4	0,25-2	≤0,5/9,5	0,004-0,015	2-8	0,5-2
CCM 3955 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)											
MIC (mg/l)											
AMP	AMS	CFZ	CXM	AZT	GEN	AMK	COL	T/S	CIP	CMP	TET
-	-	-	-	2-8	0,5-2	1-4	0,5-4	8/152-32/608	0,125-1	-	8-32
CCM 4225 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218)											
MIC (mg/l)											
AMP	AMS	CFZ	CXM	AZT	GEN	AMK	COL	T/S	CIP	CMP	TET
> 32	8/4-32/16	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
NCTC 13846 <i>Escherichia coli</i> (mcr-1 positive)											
MIC (mg/l)											
AMP	AMS	CFZ	CXM	AZT	GEN	AMK	COL	T/S	CIP	CMP	TET
-	-	-	-	-	-	-	4* (ngoại lệ 2-8)	-	-	-	-

*Các giá trị hợp lệ cho ≥ 90% số chủng phân lập và chỉ đôi khi là 2 hoặc 8 mg/L (nguồn: EUCAST)

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

NCTC – Ngân hàng chủng quốc gia.

Bảo vệ sức khỏe:

Các thành phần của kit không được phân loại là 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. Chất thải giấy có thể được tái chế.

Tài liệu tham khảo:

- The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MIC and zone diameters, <http://www.eucast.org>
- CLSI: Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI document M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance, <http://www.eucast.org>
- EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing, <http://www.eucast.org>
- CLSI: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; CLSI document M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Ngày cập nhật: 5. 3. 2020

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

Erba Lachema s.r.o., Karásek 2219/1d, 621 00 Brno, CZ
e-mail: diagnostics@erbamannheim.com, www.erbalachema.com

M-MIC/PI/01/20/N/INT