

## HƯỚNG DẪN SỬ DỤNG

Thuốc thử xét nghiệm tính nhạy cảm với kháng sinh của  
*Staphylococci*

**MIC STAPHY**

**Mã sản phẩm:** MLT00047

**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: MLT00047**

**Dùng cho vi sinh**

Bộ kit được thiết kế để kiểm tra tính nhạy cảm với kháng sinh của các tụ cầu khuẩn (*Staphylococci*) 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.

**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 đọng 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 phá hủy hoạt động 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 60-200 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 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 (STAPHY) lên khung để tránh nhầm lẫn khi đọc kết quả sau ủ. Ghi số của chúng 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 bề mặt 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 -1,0 trên thang McFarland.
- 4) Đổ hỗn dịch vi khuẩn vào đĩa petri vô trùng dùng để cấy
- 5) Sử dụng thiết bị cấy vô trùng để cấy đĩa: nhúng thiết bị cấy vào đĩa petri chứa còn 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 chúng 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 bề mặt 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 120 µl hỗn dịch vi khuẩn vào ống nghiệm 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 (STAPHY) lên khung để tránh nhầm lẫn khi đọc kết quả sau ủ. Ghi số của chúng kiểm tra lên đĩa.
- 5) Cấy từng giếng của đĩa với 100 µl hỗn dịch vi khuẩn đã 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°C trong 16 – 20 giờ. Tụ cầu khuẩn kháng cefoxitin (MRS) có thể được phát hiện tốt hơn khi ủ ở 35°C hoặc ở nhiệt độ thấp hơn. Đĩa được ủ trong 24 giờ trước khi đọc 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 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/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	COX	ERY	CLI	LIZ	CMP	TET	CIP	T/S	GEN	VAN	NFT
A	4	16	8	4	16	32	8	8	4/76	16	16	128
B	2	8	4	2	8	16	4	4	2/38	8	8	64
C	1	4	2	1	4	8	2	2	1/19	4	4	32
D	0,5	2	1	0,5	2	4	1	1	0,5/9,5	2	2	16
E	0,25	1	0,5	0,25	1	2	0,5	0,5	0,25/4,75	1	1	8
F	0,12	0,5	0,25	0,12	0,5	1	0,25	0,25	0,12/2,38	0,5	0,5	4
G	0,06	0,25	0,12	0,06	0,25	0,5	0,12	0,12	0,06/1,19	0,25	0,25	2
H	0,03	0,12	0,06	0,03	0,12	0,25	0,06	0,06	0,03/0,6	0,12	0,12	K

**Bảng 2: Giá trị breakpoint MIC (Điểm nhạy cảm – giới hạn) lâm sàng (mg/l) đối với tụ cầu khuẩn**

Kháng sinh	Viết tắt	EUCAST			CLSI		
		Nhạy cảm S	Trung gian I	Kháng R	Nhạy cảm S	Trung gian I	Kháng R
Penicillin	PEN	≤0,12 SA, Slug		≥0,25 SA, Slug	≤0.12		≥0.25
Cefoxitin (sàng lọc)	COX	≤4 SA, Slug, Ssap		≥8 SA, Slug, Ssap	≤4 SA, Slug		≥8 SA, Slug
Erythromycin	ERY	≤1	2	≥4	≤0.5	1-4	≥8
Clindamycin	CLI	≤0,25	0.5	≥1	≤0.5	1-2	≥4
Linezolid	LIZ	≤4		≥8	≤4		≥8
Chloramphenicol	CMP	≤8		≥16	≤8	16	≥32
Tetracycline	TET	≤1	2	≥4	≤4	8	≥16
Ciprofloxacin	CIP	≤1		≥2	≤1	2	≥4
Trimethoprim / sulfamethoxazole	T/S	≤2/38	4/76	≥8/152	≤2/38		≥4/76
Gentamicin	GEN	≤1 SA, Coa neg		≥2 SA, Coa neg	≤4	8	≥16
Vancomycin	VAN	≤2 SA ≤4 Coa neg		≥4 SA ≥8 Coa neg	≤2 SA ≤4 Coa neg	4-8 SA 8-16 Coa neg	≥16 SA ≥32 Coa neg
Nitrofurantoin	NFT	≤64 Ssap		≥128 Ssap	≤32	64	≥128

**SA – *Staphylococcus aureus*, Slug - *Staphylococcus lugdunensis*, Ssap - *Staphylococcus saprophyticus*  
Coa neg – tụ cầu khuẩn có coagulase âm tính**

Dựa theo ATU (Phạm vi không đảm bảo kỹ thuật), trước khi diễn giải các 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 loại kháng sinh cụ thể trên cơ sở xác định MIC. Việc phân loại này dựa theo tài liệu của EUCAST (1) hoặc theo tài liệu M100 của CLSI (2).**

Penicillin: Đa số các tụ cầu khuẩn đều có thể sản xuất beta-lactamase (ngoại trừ *S. saprophyticus*). Nếu giá trị MIC ≤0,12 mg/l, xác minh tính nhạy cảm bằng đĩa kháng sinh benzylpenicillin.

Cefoxitin: Sự kháng cefoxitin cho thấy chủng kiểm tra là MRSA. Cần thực hiện thêm các xét nghiệm khẳng định theo tài liệu hướng dẫn của EUCAST (3) hoặc tài liệu M100 của CLSI (2).

Clindamycin: Nếu chủng kháng erythromycin và nhạy cảm với clindamycin (hoặc 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, báo cáo là kháng clindamycin kèm chú giải theo khuyến cáo của EUCAST (1) hoặc theo tài liệu M100 của CLSI (2).

Vancomycin: Nếu kháng vancomycin, chủng vi sinh nên được gửi đến phòng thí nghiệm tham chiếu. Cần tuân thủ khuyến cáo của EUCAST (3) hoặc CLSI (2).

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 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.

<i>Staphylococcus aureus</i> CCM 4223 (ATCC 29213)											
PEN 0,25-2	COX 1-4	ERY 0,25-1	CLI 0,06-0,25	LIZ 1-4	CMP 2-16	TET 0,12-1	CIP 0,12-0,5	T/S ≤0,5/9,5	GEN 0,12-1	VAN 0,5-2	NFT 8-32

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 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:**

- (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 dokument M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- (3) EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance; <http://www.eucast.org>
- (4) EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing; <http://www.eucast.org>
- (5) CLSI: Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically. CLSI dokument M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Ngày cập nhật: 31. 10. 2019

**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

10020298