



Sensi Test gram-positive

***System for the susceptibility testing of
gram-positive bacteria***

REF.76020

<i>Contents</i>	<i>Page</i>
Italiano	1
English	4

Code F03913
Rev.1 / 20.04.2006

Sensi Test gram-positive

Sistema per l'antibiogramma dei batteri gram-positivi

DESCRIZIONE

Sensi Test gram-positive è un sistema a 24 pozzetti contenenti antibiotici essiccati per l'antibiogramma dei batteri gram-positivi. Il sistema viene inoculato con la sospensione batterica del microrganismo in esame ed incubato a 36°C ± 1°C per 18-24 ore. L'antibiogramma viene interpretato valutando il viraggio di colore dei vari pozzetti del sistema ed il ceppo batterico sarà definito come Sensibile (S), Intermedio (I) o Resistente (R).

CONTENUTO DELLE CONFEZIONI

La confezione contiene:

20 Sistemi Sensi Test gram-positive	20 fiale di <i>Inoculum Broth</i> (7 ml / fiala)
1 Foglio istruzioni	20 moduli ANTIBIOGRAMMA

PRODOTTI NECESSARI NON CONTENUTI

SUSPENSION BROTHcod 20089	Materiale vario per laboratorio di microbiologia
PHYSIOLOGICAL SOLUTION.....cod 20095	

CONFIGURAZIONE

Il sistema presenta la configurazione indicata in tabella n°1.

Tabella n°1

Pozzetto	ANTIBIOTICO (*)
1-CN	Gentamicina – 8 µg / ml
2-NET	Netilmicina – 32 µg / ml
3-TOB	Tobramicina - 8 µg / ml
4- AUG	Amoxicillina / Acido clavulanico - 8/4 µg / ml
5- AMS	Ampicillina / Sulbactam - 32/16 µg / ml
6- PIP	Piperacillina – 16 µg / ml
7-CEC	Cefaclor - 32 µg / ml
8-CFM	Cefixime - 32 µg / ml
9-CID	Cefonicid – 32 µg / ml
10-CAZ	Ceftazidime – 32 µg / ml
11-CRO	Ceftriaxone – 64 µg / ml
12-CXM	Cefuroxime – 32 µg / ml
13-CIP	Ciprofloxacina – 4µg / ml
14-LEV	Levofloxacina – 8 µg / ml
15-PEF	Pefloxacina – 8 µg / ml
16-AZM	Azitromicina – 8 µg / ml
17-CLR	Claritromicina – 8 µg / ml
18-ERY	Eritromicina – 8 µg / ml
19-MK	Miokamicina – 8 µg / ml
20-ROX	Roxitromicina – 8 µg / ml
21-FOS	Fosfomicina – 200 µg / ml
22-RD	Rifampicina – 4 µg / ml
23-SXT	Cotrimossazolo – 8 µg / ml
24-C	Controllo di crescita

(*):La concentrazione di ogni antibiotico è riferita alle norme aggiornate NCCLS–January 2004; Vol 24 N°1 (1)

PRINCIPIO DEL METODO

Sensi Test gram-positive permette di eseguire l'antibiogramma di :

- Stafilococchi, streptococchi.
- batteri gram-positivi di origine veterinaria.

L'antibiogramma viene valutato in base alla crescita o all'inibizione dei microrganismi in terreni contenenti l'antibiotico ed un indicatore di crescita nei pozzetti da **1-CN** a **23-SXT**. Il pozzetto **24-C** non contiene antibiotici ma solo il terreno colturale e l'indicatore e serve come controllo della crescita batterica.

COMPOSIZIONE

Ogni pozzetto contiene un terreno di coltura essiccato ed un indicatore di crescita. Dopo l'aggiunta ai vari pozzetti del microrganismo sospeso nell'*Inoculum Broth* si ottengono le concentrazioni in antibiotico specificate nella tabella 1.

Inoculum broth (g/L): Glucosio anidro 30.0 g ; Triptone 5.0 g ; Sodio cloruro 9.0 g ; Estratto di lievito 3.0g ; Agar 1.0 g ; Acqua distillata 1000mL ; pH 7.5 +/- 0.1

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Le colonie da sottoporre all'antibiogramma con **Sensi Test gram-positive** devono essere riprese da un terreno colturale, selettivo o non selettivo, utilizzato per l'isolamento del microrganismo in esame.

PROCEDURA DEL TEST

- Prelevare un sistema dal suo involucro e portarlo a temperatura ambiente.
- Annotare nome, data e provenienza del microrganismo.
- Preparare una sospensione batterica di opacità equivalente a quella dello standard 0,5 McFarland prelevando una o più colonie morfologicamente simili, ben isolate, da un terreno di coltura solido e sospendendole in 5 ml di SUSPENSION BROTH (cod.20089) o in 5 ml di PHYSIOLOGICAL SOLUTION (cod.20095).
- Prelevare una fiala di *Inoculum Broth* contenuta nel kit.
- Trasferire 0.2 mL di sospensione batterica in SUSPENSION BROTH (cod.20089) o in PHYSIOLOGICAL SOLUTION (cod.20095) nella fiala di *Inoculum Broth* contenuta nel kit e distribuire 0.2 ml (4 gocce) in ciascun pozzetto del sistema.
- Coprire il sistema con l'apposito coperchio e incubare a 36°C ± 1°C per 18-24 ore.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Al termine dell'incubazione osservare il viraggio di colore dei pozzetti ed interpretare i risultati servendosi della tabella n°2. Trascrivere i dati nell'apposito modulo ANTIBIOGRAMMA.

Il pozzetto di controllo (**24-C**) deve risultare positivo (giallo). Nel caso in cui risultasse negativo (rosso oppure arancio), è necessario verificare la vitalità delle colonie prelevate e ripetere l'esame utilizzando un nuovo sistema ed una coltura batterica di crescita recente.

Tabella n°2

COLORE POZZETTO	CRESCITA BATTERICA	INTERPRETAZIONE
Rosso	Inibita	S = Sensibile
Arancio	Parzialmente inibita	I = Intermedio
Giallo	Buona	R = Resistente

CONTROLLO QUALITA'

Ogni lotto di **Sensi Test gram-positive** viene sottoposto al controllo di qualità utilizzando i seguenti ceppi batterici di riferimento:

<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC 25923
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 49619

FATTORI CHE POSSONO INVALIDARE I RISULTATI

- Uso di colture miste o inquinate
- Imprecisa standardizzazione dell'inoculo
- Uso di soluzioni di inoculo diverse da quelle suggerite
- Uso di sistemi scaduti
- Temperatura e tempi di incubazione diversi da quelli suggeriti
- Mancata crescita nel pozzetto **24-C**

LIMITI ED AVVERTENZE

I risultati ottenuti con il sistema **Sensi Test gram-positive** devono essere interpretati da un microbiologo clinico prima di procedere al trattamento terapeutico del paziente.

PERFORMANCE

Il sistema **Sensi Test gram-positive** permette di eseguire l'antibiogramma secondo il metodo della microdiluizione in brodo. I risultati ottenuti con il sistema **Sensi Test gram-positive** concordano con quelli ottenuti seguendo le norme indicate dalla National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A^(2,4) e con quelli del metodo di diffusione radiale secondo Bauer *et al.*^(3,4) raccomandato dalla Food and Drug Administration (FDA).

PRECAUZIONI

Il prodotto, **Sensi Test gram-positive**, non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente né contiene sostanze nocive in concentrazioni $\geq 1\%$, pertanto non richiede la disponibilità della Scheda di Sicurezza. **Sensi Test gram-positive** è un dispositivo monouso da usare solo per uso diagnostico *in vitro*, è destinato ad un ambito professionale e deve essere usato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

CONSERVAZIONE

Conservare a 2-8°C nella sua confezione originale, in queste condizioni il prodotto è valido fino alla data di scadenza indicata in etichetta. Non utilizzare oltre questa data. Eliminare se vi sono segni di deterioramento.

ELIMINAZIONE DEL MATERIALE USATO

Dopo l'utilizzazione **Sensi Test gram-positive** ed il materiale venuto a contatto con il campione devono essere decontaminati e smaltiti in accordo con le tecniche in uso in laboratorio per la decontaminazione e lo smaltimento del materiale potenzialmente infetto.

PRESENTAZIONE

Prodotto	Codice	Confezione
Sensi Test gram-positive	76020	20 tests

TABELLA DEI SIMBOLI

 Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>	 Non riutilizzare	 Fabbricante	 Contenuto sufficiente per <n> saggi	 Limiti di temperatura
 Numero di catalogo	 Fragile, maneggiare con cura	 Utilizzare entro	 Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	 Codice del lotto



Sensi Test gram-positive

System for the susceptibility testing of gram-positive bacteria

DESCRIPTION

Sensi Test gram-positive is a 24-well system containing desiccated antibiotics for the susceptibility testing of gram-positive bacteria. The system is inoculated with the bacterial suspension of the micro-organism under examination and incubated at 36°C ± 1°C for 18-24 hours. The susceptibility testing is interpreted by assessing the change in colour of the various wells in the system, and the strain of bacteria is defined as Sensitive (S), Intermediate (I) or Resistant (R).

KIT CONTENTS

The kit contains:

20 Sensi Test gram-positive systems	20 vials of <i>Inoculum Broth</i> (7 ml / vial)
Instruction sheet	20 ANTIBIOGRAMMA forms

ITEMS NECESSARY BUT NOT INCLUDED IN THE KIT

SUSPENSION BROTHcode 20089	PHYSIOLOGICAL SOLUTION.....code 20095
Sundry microbiology laboratory materials	

CONFIGURATION

The configuration of the system is shown in Table n°1.

Table n°1

Well	ANTIBIOTIC (*)
1-CN	Gentamicin – 8 µg / mL
2-NET	Netilmicin – 32 µg / mL
3-TOB	Tobramycin - 8 µg / mL
4- AUG	Amoxicillin / Clavulanic acid - 8/4 µg / mL
5- AMS	Ampicillin / Sulbactam - 32/16 µg / mL
6- PIP	Piperacillin – 16 µg / mL
7-CEC	Cefaclor - 32 µg / mL
8-CFM	Cefixime - 32 µg / mL
9-CID	Cefonicid – 32 µg / mL
10-CAZ	Ceftazidime – 32 µg / mL
11-CRO	Ceftriaxone – 64 µg / mL
12-CXM	Cefuroxime – 32 µg / mL
13-CIP	Ciprofloxacin – 4µg / mL I
14-LEV	Levofloxacin – 8 µg / mL
15-PEF	Pefloxacin – 8 µg / mL
16-AZM	Azithromycin – 8 µg / mL
17-CLR	Clarithromycin – 8 µg / mL
18-ERY	Erythromycin – 8 µg / mL
19-MK	Miokamycin – 8 µg / mL
20-ROX	Roxitromycin – 8 µg / mL
21-FOS	Fosfomicin – 200 µg / mL
22-RD	Rifampicin – 4 µg / mL
23-SXT	Co-trimoxazole – 8 µg / mL
24-C	Growth control

(*):The concentration of each antibiotic is according to the updated NCCLS–January2004; Vol 24 N°1⁽¹⁾

PRINCIPLE OF THE METHOD

Sensi Test gram-positive makes it possible to execute the susceptibility testing of :

- Staphylococci, streptococci
- Gram-positive bacteria of veterinary origin.

The susceptibility testing is assessed on the basis of the growth or inhibition of the micro-organisms in media containing antibiotic and a growth indicator in wells from 1-CN to 23-SXT. Well 24-C does not contain antibiotics, only the culture medium, and the indicator therefore serves as a control for bacterial growth.

COMPOSITION

Each well contains an essiccated culture medium and a growth indicator. After the inoculum of the system with the microorganism in *Inoculum broth* the obtained antibiotic concentrations of the wells are those indicated on the Table n°1.

Inoculum broth (g/L): *Glucose anhydrous 30.0 g; Tryptone 5.0g; Chloride Sodium 1000 ml; Extract yeast 3.0g; Agar 1.0g; Distilled water 1000 mL; pH 7.5 ± 0.1*

COLLECTION AND STORAGE OF THE SAMPLES

The colonies to be subjected to the susceptibility testing with **Sensi Test gram-positive** must be taken from a selective or non-selective culture medium used for isolation of the micro-organism under examination.

TEST PROCEDURE

- Take a system from its wrapper and bring it to ambient temperature.
- Write down the name, date and source of the micro-organism.
- Prepare a bacterial suspension of opacity equivalent to that of the standard 0.5 McFarland, taking one or more morphologically similar, well-isolated, colonies from a solid culture medium and suspending them in 5 ml of SUSPENSION BROTH (code 20089) or in 5 ml of PHYSIOLOGICAL SOLUTION (code 20095).
- Take a vial of the *Inoculum Broth* contained in the kit.
- Transfer 0.2 ml of bacterial suspension in SUSPENSION BROTH (code 20089) or in PHYSIOLOGICAL SOLUTION (code 20095) into the vial of *Inoculum Broth* contained in the kit and distribute 0.2 ml (4 drops) into each well of the system.
- Cover the system with the lid provided and incubate at 36°C ± 1°C for 18-24 hours.

INTERPRETATION OF THE RESULTS

At the end of the incubation, observe the change in colour of the wells and interpret the results using Table 2. Transcribe the data onto the ANTIBIOGRAMMA forms provided.

The control well (**24-C**) must be positive (yellow). In the event that it is negative (red or orange), the vitality of the sample colonies must be checked and the test repeated using a new system and a recently grown bacterial culture.

Table n°2

WELL COLOUR	BACTERIAL GROWTH	INTERPRETATION
Red	Inhibited	S = Sensitive
Orange	Partially inhibited	I = Intermediate
Yellow	Good	R = Resistant

QUALITY CONTROL

Each batch of **Sensi Test gram-positive** is subjected to quality control using the following reference strains of bacteria:

Staphylococcus aureus..... ATCC 25923
Streptococcus pneumoniae..... ATCC 49619

FACTORS THAT MAY INVALIDATE THE RESULTS

- Use of mixed cultures
- Inaccurate standardisation of the inoculum
- Use of inoculum solutions other than those suggested
- Application of the method to slow growing or anaerobic bacteria
- Use of expired systems
- Temperature and times for incubation other than those suggested
- Lack of growth in well **24-C**

LIMITS AND WARNINGS

The results obtained with the system **Sensi Test gram-positive** must be interpreted by a clinical microbiologist before proceeding to therapeutic treatment of the patient.

PERFORMANCE

The system **Sensi Test gram-positive** makes it possible to execute the susceptibility testing according to the method of micro-dilution in broth. The results obtained with the system **Sensi Test gram-positive** agree with those obtained following the standards indicated by the National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) U.S.A. ^(2,4) and with those from the radial diffusion method according to Bauer et al. ^(3,4) recommended by the Food and Drug Administration (FDA).

PRECAUTIONS

The product, **Sensi Test gram-positive**, is not classified as hazardous under current legislation nor does it contain harmful substances in concentrations $\geq 1\%$. It therefore does not require a Safety Data Sheet to be available. **Sensi Test gram-positive** is a disposable device to be used only for diagnostic use *in vitro*. It is intended for use in a professional environment and must be used in the laboratory by properly trained personnel, using approved asepsis and safety methods for handling pathogenic agents.

STORAGE

Store at 2-8°C in the original packaging. In such conditions the product will remain valid until the expiry date indicated on the label. Do not use beyond that date. Eliminate without using if there are signs of deterioration.

DISPOSAL OF USED MATERIAL

After use, **Sensi Test gram-positive** and material that has come into contact with the sample must be decontaminated and disposed of in accordance with the techniques used in the laboratory for decontamination and disposal of potentially infected material.

PRESENTATION

Product	Code	Kit
Sensi Test gram-positive	76020	20 tests

TABLE OF SYMBOLS

IVD <i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device	 Do not reuse	 Manufacturer	 Contains sufficient for <n> tests	 Temperature limitation
REF Catalogue number	 Fragile, handle with care	 Use by	 Caution, consult accompanying documents	LOT Batch code



BIBLIOGRAFIA / BIBLIOGRAPHY

1. NCCLS - Performance Standards for antimicrobial Susceptibility Testing, fourteenth Informational Supplement- January 2004, Vol 24 N°1.
2. NCCLS -Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility tests for Bacteria that grow aerobically; Approved Standard – Sixth Edition (2003).
3. Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris and M. Turk. 1966. Antimicrobial susceptibility testing by a standardized single disk method. *AM. J. Clin. Pathol.* **45**:493-496.
4. Dati di archivio Liofilchem s.r.l."SENSI TEST GRAM POSITIVE" (Giugno 2005).



LIOFILCHEM
Bacteriology Products

LIOFILCHEM S.r.l.

Via Scozia, Zona Ind.le - 64026, Roseto D.A. (TE) - ITALY

Tel +390858930745 Fax +390858930330 Website: www.liofilchem.net E-mail: liofilchem@liofilchem.net