



SensiQuattro Gram-negative

System for determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) of gram-negative bacteria with the broth microdilution method.

Ref. 76031 - 79031

Contents	Page
Italiano	1
English	4

Rev.0.1 / 25.11.2013



SensiQuattro Gram-negative

ITALIANO

Sistema per la determinazione della Minima Concentrazione Inibente (MIC) dei batteri gram negativi con il metodo della microdiluizione in brodo.

DESCRIZIONE

SensiQuattro Gram-negative è un sistema a 40 pozzetti contenente 9 antibiotici essiccati in quattro concentrazioni ed 1 antibiotico a tre concentrazioni scalari per raddoppio.

Il sistema permette di eseguire l'antibiogramma con valutazione della minima concentrazione inibente (MIC), dei batteri gram negativi verso agenti antibiotici e stabilire la sensibilità del microrganismo in riferimento ai criteri interpretativi definiti da EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) o CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*).

CONTENUTO DELLE CONFEZIONI

ref. 76031	<ul style="list-style-type: none"> • 20 Sistemi SensiQuattro Gram-negative • 20 Fiale di Physiological Solution • 20 Fiale di Suspension Medium 	ref. 79031	<ul style="list-style-type: none"> • 4 Sistemi SensiQuattro Gram-negative • 4 Fiale di Physiological Solution • 4 Fiale di Suspension Medium
Foglio Istruzioni		Modulo TEST RESULTS FORM	

PRODOTTI NECESSARI NON CONTENUTI

Mc Farland 0.5 Barium Sulphate Standard (ref.80400)	Puntali per pipetta multicanale (ref.96758)
Pipetta multicanale 50-300 µl (ref.96759)	Vaschetta per soluzione inoculo (ref. 96761)

CONFIGURAZIONE

POZZETTO	ANTIBIOTICO	µg/ml	POZZETTO	ANTIBIOTICO	µg/ml
CN	Gentamicina	2	AMS	Ampicillina / Sulbactam	8 / 4
CN	Gentamicina	4	AMS	Ampicillina / Sulbactam	16 / 8
CN	Gentamicina	8	AMS	Ampicillina / Sulbactam	32 / 16
CN	Gentamicina	16	AMS	Ampicillina / Sulbactam	64 / 32
AK	Amikacina	8	CIP	Ciprofloxacina	0.5
AK	Amikacina	16	CIP	Ciprofloxacina	1
AK	Amikacina	32	CIP	Ciprofloxacina	2
AK	Amikacina	64	CIP	Ciprofloxacina	4
TOB	Tobramicina	4	LEV	Levofloxacina	1
TOB	Tobramicina	8	LEV	Levofloxacina	2
TOB	Tobramicina	16	LEV	Levofloxacina	4
TOB	Tobramicina	32	LEV	Levofloxacina	8
TZP	Piperacillina / Tazobactam	16 / 4	CXM	Cefuroxime	4
TZP	Piperacillina / Tazobactam	32 / 4	CXM	Cefuroxime	8
TZP	Piperacillina / Tazobactam	64 / 4	CXM	Cefuroxime	16
TZP	Piperacillina / Tazobactam	128 / 4	CXM	Cefuroxime	32
FOS	Fosfomicina	32	SXT	Cotrimossazolo	2 / 38
FOS	Fosfomicina	64	SXT	Cotrimossazolo	4 / 76
FOS	Fosfomicina	128	SXT	Cotrimossazolo	8 / 152
FOS	Fosfomicina	256	Growth	Controllo di crescita	

PRINCIPIO DEL METODO

Il sistema viene inoculato e reidratato con una sospensione microbica standardizzata ed incubato a $36\pm 1^\circ\text{C}$ per 18-24 ore. Dopo l'incubazione il test antibiogramma (MIC) viene determinato in base alla crescita o all'inibizione del microorganismo nel pozzetto contenente l'antibiotico, fattori nutritivi e un indicatore di crescita. Il pozzetto **Growth** non contiene antibiotici e viene utilizzato come controllo di crescita microbica.

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEI CAMPIONI

Le colonie da sottoporre al test di antibiogramma (MIC) devono essere ben isolate e riprese da un terreno colturale, selettivo o non selettivo, utilizzato per la crescita del microorganismo in esame.

PROCEDURA DEL TEST

1. Prelevare un sistema **SensiQuattro Gram-negative** dal suo involucro e portarlo a temperatura ambiente.
2. Annotare nome del paziente, data e provenienza del microorganismo.
3. Prelevare una o più colonie microbiche e sospenderle in una fiala di *Physiological Solution* contenuta nel kit fino ad ottenere una torbidità pari allo Standard McFarland 0.5 (ref. 80400).
4. Trasferire 0.2 ml di sospensione batterica in una fiala di Suspension Medium* contenuta nel kit e svuotarla nella Vaschetta inoculo (ref. 96761).
5. Utilizzando una pipetta multicanale con otto puntali sterili o una pipetta a singolo puntale, distribuire 0.15 ml di sospensione microbica in ciascun pozzetto del sistema.
6. Coprire il sistema con l'apposito coperchio ed incubare a $36\pm 1^\circ\text{C}$ per 18-24 ore.

* Suspension Medium (g/l): Estratto di lievito 5.0 g; Peptone di Carne 3.0 g; Glucosio 2.0 g; Acqua Distillata 1000 ml;
pH 6.8 ± 0.2

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Al termine dell'incubazione osservare il viraggio di colore dei pozzetti e stabilire i valori di minima concentrazione inibente servendosi della tabella n°2.

- Il pozzetto di controllo **Growth** deve risultare di colore giallo. Nel caso in cui risultasse di colore blu, è necessario verificare la vitalità delle colonie prelevate e ripetere l'esame utilizzando un nuovo sistema ed una coltura microbica di crescita recente.

Tabella n°2.

Colore pozzetto	Crescita microbica
Blu	Inibita
Giallo/Grigio	Buona

- I valori di minima concentrazione inibente (MIC) ottenuti devono essere interpretati secondo i criteri stabiliti da EUCAST ⁽¹⁾ o da CLSI ⁽²⁾.
- Trascrivere i dati ottenuti sul modulo TEST RESULTS FORM contenuto nel kit (fotocopiare il numero necessario di moduli).

CONTROLLO QUALITÀ

Ogni lotto di **SensiQuattro Gram-negative** viene sottoposto al controllo di qualità utilizzando i seguenti microrganismi:

<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 700603
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC® 13047	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC® 14028

FATTORI CHE POSSONO INVALIDARE I RISULTATI

Imprecisa standardizzazione dell'inoculo; materiale clinico non idoneo; uso di sistemi e reagenti supplementari; temperatura e tempi di incubazione non rispettati.

PRECAUZIONI

Il prodotto, **SensiQuattro Gram-negative**, non è classificato come pericoloso ai sensi della legislazione vigente; per un suo corretto impiego si consiglia comunque di consultare la Scheda di Sicurezza.

SensiQuattro Gram-negative 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 E TRASPORTO

Conservare **SensiQuattro Gram-negative** a 2-8°C nella sua confezione originale. Tuttavia i nostri studi di stabilità hanno dimostrato che la conservazione o il trasporto a 18-25°C per 4 giorni, oppure a 35-39°C per 48 ore, non alterano in nessun modo l'efficienza del prodotto. conservare vicino a fonti di calore ed evitare eccessive variazioni di temperatura. 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 aver utilizzato il sistema **SensiQuattro Gram-negative** ed il materiale venuto a contatto con il campione, questi devono essere decontaminati e smaltiti in accordo con le tecniche in uso in laboratorio.








BIBLIOGRAFIA

1. EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.
2. CLSI M100-S23. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.

PRESENTAZIONE

Prodotto	Ref.	Confezione
SensiQuattro Gram-negative	76031	20 test
SensiQuattro Gram-negative	79031	4 test

TABELLA DEI SIMBOLI

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





SensiQuattro Gram-negative

ENGLISH

System for determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC)
of gram-negative bacteria with the broth microdilution method.

DESCRIPTION

SensiQuattro Gram-negative is a 40-well plate containing 9 dried antibiotics in four two-fold dilutions and 1 antibiotic in three two-fold dilutions.

The system allows to perform the antibiogram with evaluation of the minimum inhibitory concentration (MIC), for gram-negative bacteria towards antibiotic agents establishing the sensitivity of the microorganism according to the EUCAST (*European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing*) or CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*) interpretative criteria.

KIT CONTENT

ref. 76031	<ul style="list-style-type: none"> • 20 Systems SensiQuattro Gram-negative • 20 Vials of Physiological Solution • 20 Vials of Suspension Medium 	ref. 79031	<ul style="list-style-type: none"> • 4 Systems SensiQuattro Gram-negative • 4 Vials of Physiological Solution • 4 Vials of Suspension Medium
Instruction Sheet		TEST RESULTS FORM	

ITEMS NECESSARY BUT NOT INCLUDED IN THE KIT

Mc Farland 0.5 Barium Sulphate Standard (ref.80400)	Tips for multi.channel pipette (ref.96758)
Multi.channel pipette 50-300 µl (ref.96759)	Solution reservoir for multichannel pipette (ref. 96761)

CONFIGURATION

WELL	ANTIBIOTIC	µg/ml	WELL	ANTIBIOTIC	µg/ml
CN	Gentamicin	2	AMS	Ampicillin / Sulbactam	8 / 4
CN	Gentamicin	4	AMS	Ampicillin / Sulbactam	16 / 8
CN	Gentamicin	8	AMS	Ampicillin / Sulbactam	32 / 16
CN	Gentamicin	16	AMS	Ampicillin / Sulbactam	64 / 32
AK	Amikacin	8	CIP	Ciprofloxacin	0.5
AK	Amikacin	16	CIP	Ciprofloxacin	1
AK	Amikacin	32	CIP	Ciprofloxacin	2
AK	Amikacin	64	CIP	Ciprofloxacin	4
TOB	Tobramycin	4	LEV	Levofloxacin	1
TOB	Tobramycin	8	LEV	Levofloxacin	2
TOB	Tobramycin	16	LEV	Levofloxacin	4
TOB	Tobramycin	32	LEV	Levofloxacin	8
TZP	Piperacillin / Tazobactam	16 / 4	CXM	Cefuroxime	4
TZP	Piperacillin / Tazobactam	32 / 4	CXM	Cefuroxime	8
TZP	Piperacillin / Tazobactam	64 / 4	CXM	Cefuroxime	16
TZP	Piperacillin / Tazobactam	128 / 4	CXM	Cefuroxime	32
FOS	Fosfomicin	32	SXT	Co-trimoxazole	2 / 38
FOS	Fosfomicin	64	SXT	Co-trimoxazole	4 / 76
FOS	Fosfomicin	128	SXT	Co-trimoxazole	8 / 152
FOS	Fosfomicin	256	Growth	Growth control	

PRINCIPLE OF THE METHOD

The system is inoculated and rehydrated with a standardized microbial suspension and incubated at $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 18-24 hours. After incubation the susceptibility test (MIC) is determined on the basis of growth or inhibition of microorganism in the well containing the antibiotic, nutritional factors and a growth indicator. The well **Growth** does not contain antibiotics and is used as a control of microbial growth.

COLLECTION AND STORAGE OF THE SAMPLE

The colonies to be subjected to the susceptibility test (MIC) must be properly isolated and taken from a culture medium, selective or non-selective, used for isolation of the microorganism.

TEST PROCEDURE

1. Take a system **SensiQuattro Gram-negative** from its wrapper and let it reach room temperature.
2. Write down the patient's name, date and origin of the organism.
3. Take several morphologically similar, well-isolated, colonies and suspend them in a vial of *Physiological Solution* from the kit and obtain a suspension of opacity equivalent to the standard 0.5 McFarland (ref. 80400).
4. Transfer 0.2 ml of the bacterial suspension in a vial of Suspension Medium* contained in the kit and drain the solution into the reservoir for multi-channel pipetting (ref. 96761).
5. Dispense 0.15 ml of bacterial suspension into each well of the system using an eight tips multichannel pipette or a single tip pipette.
6. Cover the system with the lid provided and incubate at $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ for 18-24 hours.

* Suspension Medium (g/l): Yeast Extract 5.0 g; Beef Peptone 3.0 g; Glucose 2.0 g; Distilled Water 1000 ml;
pH 6.8 ± 0.2

INTERPRETATION OF THE RESULTS

After incubation, observe the color change in the wells and establish the values of minimum inhibitory concentration using table No. 2.

- The control well Growth must be yellow in color. If it turns blue, check the viability of the colonies picked and repeat the test using a new system and a microbial culture of recent growth.

Table No. 2.

Well colour	Microbial growth
Blue	Inhibited
Yellow/Grey	Good

- The obtained values of minimum inhibitory concentration (MIC) must be interpreted according to the current EUCAST ⁽¹⁾ or CLSI ⁽²⁾ interpretative criteria.
- Note the results on the TEST RESULTS FORM included in the kit (copy as many form as necessary).

QUALITY CONTROL

Each batch of **SensiQuattro Gram-negative** is subjected to quality control using the following microorganisms:

<i>Escherichia coli</i>	ATCC® 25922	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 700603
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC® 13047	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC® 27853
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC® 13883	<i>Salmonella typhimurium</i>	ATCC® 14028

FACTORS THAT MAY INVALIDATE THE RESULTS

Inaccurate standardization of the inoculum; clinical material not suitable; use of additional systems and reagents; temperature and incubation time not respected.

PRECAUTIONS

The product, **SensiQuattro Gram-negative**, is not classified as hazardous under current legislation, however see the safety data sheet for a correct use. **SensiQuattro Gram-negative** is a disposable device to be used only for diagnostic use *in vitro* and must be used in the laboratory by appropriately trained personnel, using approved aseptic and safety methods for handling pathogenic agents.

STORAGE AND TRANSPORT CONDITIONS

Store **SensiQuattro Gram-negative** at 2-8°C away from light, until the expiry date on the label. However, our stability studies have shown that the storage or transport at 18-25°C for 4 days, or at 35-39°C for 48 hours, do not alter in any way the performance of the product. Discard the panel if there are visible signs of deterioration.

DISPOSAL OF USED MATERIAL

After use, **SensiQuattro Gram-negative** and material that has come into contact with the sample must be decontaminated and disposed of in accordance with guidelines used in the laboratory for decontamination and disposal of potentially infected material.




REFERENCES

1. EUCAST. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters.
2. CLSI M100-S23. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.

PRESENTATION

Product	Ref.	Packaging
SensiQuattro Gram-negative	76031	20 tests
SensiQuattro Gram-negative	79031	4 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

