



ComASP™ Colistin

System for colistin susceptibility testing with the broth microdilution method.

DESCRIPTION

Clinicians are re-thinking to colistin as therapeutic option for the treatment of severe infections caused by multidrug-resistant microorganisms, such as *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. However, colistin-resistant strains are worldwide disseminated leading to the need to determine the value of minimum inhibitory concentration (MIC) before the drug is prescribed. Although several commercial tests based on different techniques have been developed, broth microdilution (BMD) is considered the best method for performing colistin susceptibility testing so far.

ComASP Colistin is a 4-test panel containing the dried up antibiotic in 7 two-fold dilutions (0.25 - 16 µg/ml). The system is used to perform the broth microdilution (BMD) method for the antimicrobial susceptibility testing of colistin (polymyxin E) as recommended by international standards (i.e. CLSI, EUCAST, ISO) but in a simpler and less time-consuming way.

KIT CONTENT

- 4 Systems (panels) of ComASP Colistin (panels individually packed in foil with silica gel desiccant)
- 16 Tubes of Mueller Hinton II Broth (3.6 ml)
- Sealing Film
- Instructions Sheet and Test Results Form

ITEMS NECESSARY BUT NOT INCLUDED IN THE KIT

- McFarland 0.5 Barium Sulphate Standard (ref.80400)
- Solution reservoir for multichannel pipette (ref. 96761)
- Physiological Solution (ref. 20095)
- Tips for multichannel pipette (ref.96758)
- Multichannel pipette 30-300 µl (ref.96759)

CONFIGURATION

Test	Colistin Concentration (µg/ml)						
A Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
B Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
C Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
D Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16

Growth indicates growth control: No antimicrobial agent in the well.

PRINCIPLE OF THE METHOD

A panel allows the susceptibility testing of 4 different isolates. All wells in a single row (A, B, C or D) are rehydrated with a standardized microbial suspension. After incubation in thermostat the result is read and interpreted.

COLLECTION AND STORAGE OF THE SAMPLE

ComASP Colistin is not for use directly with clinical or other specimens. The microorganism to be tested must first be isolated on a suitable non-selective culture medium. In case of mixed culture, selected colonies should be purified by subculturing.

TEST PROCEDURE

1. Take a panel from its envelope and leave it at room temperature for 10 min,
DO NOT DISCARD THE ENVELOPE until all 4 tests have been carried out.
2. Prepare a suspension of the test organism using either the direct colony suspension or growth method.
3. Standardize the suspension to the density of a McFarland 0.5 standard.
4. Optimally within 15 min of preparation, dilute the adjusted suspension 1:20 in saline; this will be the **Solution A**.
5. Add 0.4 ml of Solution A to a tube of MH II Broth* provided in the kit to obtain the **Solution B**.
6. Dispense 100 µl of Solution B into each well in a row.
7. Cover the panel with the lid provided and incubate at $36 \pm 2^\circ\text{C}$ for 16-20 hours in ambient air.

* Mueller Hinton II Broth (g/l): Beef Extract 3.0 g; Acid Hydrolysate of Casein 17.5 g; Starch 1.5 g; Distilled Water 1000 ml;
pH 7.3 ± 0.1
(adjusted with appropriate salts to provide 20-25 mg/l of calcium and 10-12.5 mg/l of magnesium)

READING THE RESULTS

At the end of the incubation period observe the growth in the wells and establish the MIC, i.e. the lowest concentration of antibiotic that inhibits visible growth.

The result can be read visually or automatically. Reading by the naked eye can be improved by use of bright indirect lighting against a dark background.

Growth appears as turbidity or as a button at the bottom of the well (compare with the amount of growth in the growth-control well).

The growth-control well should be evaluated first. Make sure it is positive for growth. If not, check the viability of the colonies picked and repeat the test using a new row in the same panel or a new panel and a microbial culture of recent growth.

Note the results on the Test Results Form included in the kit (copy as many form as necessary).

INTERPRETATION OF THE RESULTS

The MIC obtained should be interpreted according to current EUCAST or CLSI interpretative criteria.

NOTE: Each single panel can be used up to four times. If less than 4 tests have been performed, use the film provided in the kit to seal the inoculated rows so to prevent any leakage of contaminated fluids. Then, return the panel into its own desiccant envelope and into the refrigerator (see STORAGE).

USER QUALITY CONTROL

Quality control of ComASP Colistin is performed using the following reference strains:

1. *Escherichia coli* ATCC® 25922; NCTC 12241
2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853; NCTC 12903
3. *Escherichia coli* NCTC 13846

Strain 1 and 2 are both susceptible to colistin and the acceptable MIC range is 0.25–2 µg/ml for *E. coli* and 0.5–4 µg/ml for *P. aeruginosa*. For *E. coli* NCTC 13846 (mcr-1 positive), which is instead resistant to colistin, the MIC target value is 4 µg/ml and should only on occasion be 2 or 8 µg/ml.

FACTORS THAT MAY INVALIDATE THE RESULTS

Contaminated culture; poor standardization of the inoculum; clinical material unsuitable; use of expired panels or expired supplementary reagents; non compliance with temperatures and times of incubation.

PRECAUTIONS

The product ComASP Colistin does not contain hazardous substances in concentrations exceeding the limits set by current legislation and therefore is not classified as dangerous. It is nevertheless recommended to consult the safety data sheet for its correct use. ComASP Colistin is a disposable device to be used only for diagnostic use *in vitro*. The product must be used in the laboratory by properly trained personnel, using approved aseptic and safety methods for handling pathogenic agents.

STORAGE

Store ComASP Colistin at 2-8°C in the original packaging. Once an envelope is opened the panel should be used within 7 days. Keep away from direct sunlight and direct heat. Do not use the panels beyond the expiry date indicated on the label. Eliminate without using if there are signs of deterioration.

DISPOSAL OF USED MATERIAL

After use, ComASP Colistin 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. Carretto E. *et al.* Clinical validation of the SensiTest™ Colistin, a broth microdilution based method to evaluate colistin MICs. J Clin Microbiol. 2018;17. pii: JCM.01523-17. <http://jcm.asm.org/content/early/2018/01/11/JCM.01523-17>
2. Carretto E. *et al.* Detection of mcr-4 positive Salmonella enterica serovar Typhimurium in clinical isolates of human origin, Italy, October to November 2016. Euro Surveill. 2018;23(2):pii=17-00821. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.2.17-00821>
3. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 28th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
4. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
7. ISO 20776-1:2006. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems -- Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices -- Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.

PRESENTATION

Product	µg/ml	Packaging	Ref.
ComASP™ Colistin	0.25 - 16	4x4 tests	75001

TABLE OF SYMBOLS

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



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com





ComASP™ Colistin

ITALIANO

Sistema per il test di sensibilità della colistina con il metodo della microdiluizione in brodo.

DESCRIZIONE

La colistina è tornata tra le opzioni terapeutiche per il trattamento di infezioni gravi causate da microrganismi multiresistenti come ad esempio *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* ed Enterobacteriaceae resistenti ai carbapenemi. Comunque, i ceppi resistenti alla colistina sono disseminati in tutto il mondo e per questo si rende necessario determinare il valore della concentrazione minima inibente (MIC) prima di prescrivere il farmaco. Sebbene diverse tipologie di test sono state sviluppate e sono disponibili in commercio, la microdiluizione in brodo (BMD) è considerata il metodo migliore, fino ad oggi, per eseguire il test di sensibilità della colistina.

ComASP Colistin è un dispositivo contenente l'antibiotico essiccato in concentrazioni scalari (0.25 - 16 µg/ml); ciascun pannello permette di effettuare 4 test. Il sistema è utilizzato per eseguire il metodo della microdiluizione in brodo (BMD) per l'antibiogramma della colistina (polimixina E) come raccomandato dagli standard internazionali (i.e. CLSI, EUCAST, ISO) ma in maniera più semplice e meno dispendiosa in termini di tempo.

CONTENUTO DEL KIT

- 4 Sistemi (pannelli) di ComASP Colistin (pannelli confezionati singolarmente in bustina con gel essiccante)
- 16 Provette di Mueller Hinton II Broth (3.6 ml)
- Film adesivo
- Istruzioni per l'Uso e Modulo Raccolta Dati

PRODOTTI NECESSARI MA NON CONTENUTI NEL KIT

- McFarland 0.5 Barium Sulphate Standard (ref.80400)
- Puntali per pipetta multicanale (ref.96758)
- Vaschetta per soluzione inoculo per pipetta multicanale (ref. 96761)
- Pipetta multicanale 30-300 µl (ref.96759)
- Physiological Solution (ref. 20095)

CONFIGURAZIONE

Test	Concentrazione Colistina (µg/ml)						
A Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
B Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
C Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
D Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16

"Growth" indica il controllo di crescita: pozzetto non contenente l'agente antimicrobico.

PRINCIPIO DEL METODO

Un pannello permette di effettuare il test di sensibilità su 4 differenti isolati.

Tutti i pozzetti in una fila orizzontale (A, B, C o D) vengono reidratati con una sospensione microbica standardizzata.

I risultati si leggono ed interpretano dopo l'incubazione in termostato.

RACCOLTA E CONSERVAZIONE DEL CAMPIONE

ComASP Colistin non è utilizzato direttamente con campioni clinici o di altro genere. I microrganismi da testare devono prima essere isolati su un terreno di coltura appropriato non selettivo. In caso di colture miste, le colonie selezionate dovrebbero essere purificate mediante subcoltura.

PROCEDURA DEL TEST

1. Prelevare un pannello dalla sua bustina e lasciare a temperatura ambiente per 10 min, **NON ELIMINARE LA BUSTINA** finché non sono stati effettuati tutti e 4 i test.
2. Preparare una sospensione del microrganismo da testare utilizzando direttamente la sospensione della colonia (direct colony suspension) o il metodo di crescita (growth method).
3. Standardizzare la sospensione alla densità 0.5 McFarland.
4. Approssimativamente entro 15 min dalla preparazione, diluire la sospensione 1:20 in fisiologica; questa sarà la **Soluzione A**.
5. Trasferire 0.4 ml di Soluzione A in una provetta di MH II Broth* fornita nel kit per ottenere la **Soluzione B**.
6. Dispensare 100 µl di Soluzione B in ciascun pozzetto in una fila orizzontale.
7. Coprire il pannello con il coperchio fornito ed incubare a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ per 16-20 ore in atmosfera aerobica.

* Mueller Hinton II Broth (g/l): Estratto di Manzo 3.0 g; Idrolizzato Acido di Caseina 17.5 g; Amido 1.5 g; Acqua Distillata 1000 ml; pH 7.3 ± 0.1 (formulazione compensata e/o corretta con sali adeguati per ottenere 20-25 mg/l di calcio e 10-12.5 mg/l di magnesio)

LETTURA DEI RISULTATI

Al termine del periodo di incubazione osservare la crescita nei pozzetti e stabilire la MIC, i.e. la concentrazione più bassa di antibiotico in grado di inibire una crescita visibile.

Il risultato può essere letto visualmente o automaticamente. La lettura ad occhio nudo può essere agevolata utilizzando luce indiretta e luminosa contro un fondo scuro.

La crescita appare come torbidità o come un bottone sul fondo del pozzetto (confrontare con la crescita nel pozzetto di controllo).

Valutare per prima il pozzetto di controllo. Assicurarsi che sia positivo per la crescita. Se negativo, controllare la vitalità delle colonie prelevate e ripetere il test utilizzando un'altra fila nello stesso pannello o un nuovo pannello e una coltura microbica fresca.

Trascrivere i risultati sul Modulo Raccolta Dati incluso nel kit (fotocopiare il numero necessario di moduli).

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il valore di MIC ottenuto va interpretato secondo i criteri aggiornati forniti da EUCAST, CLSI o altri standard di riferimento.

NOTE: Ciascun pannello può essere utilizzato fino a 4 volte. Se sono stati eseguiti meno di 4 test, utilizzare il film adesivo incluso nel kit per sigillare le file di pozzetti inoculati al fine di prevenire lo sversamento di fluidi contaminati. Quindi reinserire il pannello nella sua bustina con gel essiccante e riporre in frigorifero (vedi CONSERVAZIONE).

CONTROLLO QUALITÀ

Il controllo qualità del ComASP Colistin viene effettuato utilizzando i seguenti ceppi di riferimento:

1. *Escherichia coli* ATCC® 25922; NCTC 12241
2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853; NCTC 12903
3. *Escherichia coli* NCTC 13846

I ceppi 1 e 2 sono entrambi sensibili alla colistina e il range di accettabilità è 0.25–2 µg/ml per *E. coli* e 0.5–4 µg/ml per *P. aeruginosa*. Per *E. coli* NCTC 13846 (mcr-1 positivo), il quale è invece resistente, il valore target di MIC è 4 µg/ml e dovrebbe essere solo occasionalmente 2 o 8 µg/ml.

FATTORI CHE POSSONO INVALIDARE I RISULTATI

Culture contaminate; scarsa standardizzazione dell'inoculo; materiale clinico non adatto; utilizzo di pannelli scaduti o reagenti supplementari scaduti; non rispetto delle temperature e tempi di incubazione.

PRECAUZIONI

Il prodotto ComASP Colistin non contiene sostanze dannose in concentrazioni superiori ai limiti fissati dalla normativa vigente è perciò non è classificato come pericoloso. Ciononostante si raccomanda di consultare la scheda di sicurezza per il corretto utilizzo. ComASP Colistin è un dispositivo monouso per esclusivo uso diagnostico *in vitro*. Il prodotto deve essere utilizzato in laboratorio da operatori adeguatamente addestrati, con metodi approvati di asepsi e di sicurezza nei confronti degli agenti patogeni.

CONSERVAZIONE

Conservare ComASP Colistin a 2-8°C nella confezione originale. Una volta che una bustina viene aperta il pannello all'interno dovrebbe essere utilizzato entro 7 giorni. Tenere al riparo dalla luce diretta del sole e da fonti di calore. Non utilizzare i pannelli oltre la data di scadenza indicata sull'etichetta. Non utilizzare ed eliminare se vi sono segni di deterioramento.

ELIMINAZIONE DEL MATERIALE UTILIZZATO

Dopo l'utilizzo, ComASP Colistin ed il materiale venuto a contatto con il campione devono essere decontaminati e smaltiti in accordo con le tecniche in uso in laboratorio.

BIBLIOGRAFIA

1. Carretto E. *et al.* Clinical validation of the SensiTest™ Colistin, a broth microdilution based method to evaluate colistin MICs. J Clin Microbiol. 2018;17. pii: JCM.01523-17. <http://jcm.asm.org/content/early/2018/01/11/JCM.01523-17>
2. Carretto E. *et al.* Detection of mcr-4 positive Salmonella enterica serovar Typhimurium in clinical isolates of human origin, Italy, October to November 2016. Euro Surveill. 2018;23(2):pii=17-00821. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.2.17-00821>
3. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 28th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
4. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
7. ISO 20776-1:2006. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems -- Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices -- Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.

PRESENTAZIONE

Prodotto	µg/ml	Confezionamento	Ref.
ComASP™ Colistin	0.25 - 16	4x4 test	75001

TABELLA DEI SIMBOLI

IVD Dispositivo Medico Diagnostico <i>In Vitro</i>	 Non riutilizzare	 Fabbricante	 Contenuto sufficiente per <n> test	 Temperature limits
REF Numero di catalogo	 Fragile, maneggiare con cura	 Utilizzare entro	 Attenzione, consultare i documenti all'interno	LOT Codice del lotto



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com





ComASP™ Colistin

Sistema para la determinación de la sensibilidad a la colistina por microdilución.

DESCRIPCIÓN

La colistina está siendo recuperada como opción terapéutica para el tratamiento de infecciones graves producidas por microorganismos multirresistentes, tales como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y Enterobacterias resistentes a los carbapenémicos. No obstante, se conoce la existencia de cepas resistentes a la colistina, distribuidas globalmente, lo que hace necesario determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) antes de que el fármaco sea empleado. Se han desarrollado diferentes test comerciales para este fin, basados en diferentes técnicas, pero actualmente la microdilución en caldo se considera la técnica más adecuada para determinar la sensibilidad frente a la colistina.

ComASP Colistin es un panel de 4 tests que contiene el antibiótico liofilizado, a concentraciones que abarcan 7 diluciones dobles (0.25 - 16 µg/ml).

Su aplicación es la determinación de la sensibilidad a la colistina (Polimixina E) mediante microdilución en caldo, de acuerdo a los estándares internacionales (CLSI, EUCAST, ISO), de forma sencilla y rápida.

CONTENIDO DEL KIT

- 4 paneles ComASP Colistin
(paneles envasados individualmente con desecante de gel de sílice)
- 16 Tubos de caldo Mueller Hinton II (3.6 ml)
- Láminas adhesivas
- Instrucciones de uso y hoja de registro de resultados

MATERIAL NECESARIO PERO NO INCLUIDO

- Estándar McFarland 0.5 Sulfato de Bario (ref. 80400)
- Cubetas para pipeta multicanal (ref. 96761)
- Suero fisiológico (ref. 20095)
- Puntas para pipeta multicanal (ref. 96758)
- Pipeta multicanal 30-300 µl (ref. 96759)

CONFIGURACIÓN

Test	Concentración de Colistina (µg/ml)						
A Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
B Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
C Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
D Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16

Growth: Control de crecimiento; pocillo sin antimicrobiano.

PRINCIPIO DEL MÉTODO

Cada panel permite testar 4 aislados diferentes.

Cada fila de pocillos (A, B, C o D) es rehidratada con una suspensión microbiana estandarizada.

Tras la incubación en estufa bacteriológica, se leen e interpretan los valores de CMI.

PREPARACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

No utilizar ComASP Colistin con muestras clínicas directas. Los microorganismos a analizar deben ser primeramente aislados sobre un medio de cultivo apropiado no selectivo. En caso de cultivos mixtos, subcultivar para obtener aislamientos puros.

PROCEDIMIENTO DEL TEST

1. Retire un panel de su envoltorio y déjelo a temperatura ambiente durante 10 min, **NO TIRE EL ENVOLTORIO** hasta que haya agotado los 4 tests.
2. Prepare una suspensión del microorganismo a ensayar, directamente a partir de colonia o mediante crecimiento en caldo.
3. Ajuste la suspensión a una densidad McFarland 0.5.
4. Antes de 15 minutos, diluya 1:20 la suspensión estandarizada en salino; Esta será la **Solución A**.
5. Añada 0.4 ml de la solución A al tubo de MH II Broth* proporcionado, para obtener la **Solución B**.
6. Dispense 100 µl de la solución B en cada uno de los pocillos de una fila.
7. Cubra el panel con la tapa proporcionada e incúbelo en atmósfera aerobia a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 16-20 horas.

* Mueller Hinton II Broth (g/l): Infusión de carne 3.0 g; Hidrolizado ácido de caseína 17.5 g; Almidón 1.5 g; Agua destilada 1000 ml; pH 7.3 ± 0.1
(ajustado con sales para obtener 20-25 mg/l de Calcio y 10-12.5 mg/l de Magnesio)

LECTURA DE RESULTADOS

Tras la incubación, observe el crecimiento en los pocillos y registre el valor CMI, la menor concentración de antimicrobiano que inhibe el crecimiento visible.

La lectura puede ser visual o automática. La lectura visual se ve facilitada mediante el uso de luz indirecta y fondo oscuro.

El crecimiento se manifiesta como turbidez o como un botón en el fondo del pocillo (Compare con el pocillo control)

Lea primero el pocillo control y asegúrese de que hay crecimiento. En caso contrario compruebe la viabilidad del cultivo empleado para preparar el test y repita con un cultivo fresco.

Registre los resultados en la hoja proporcionada (haga copias de la misma).

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El valor de CMI obtenido debe ser interpretado de acuerdo a los criterios EUCAST o CLSI en vigor.

NOTA: Cada panel permite ensayar cuatro aislamientos. Si se han empleado menos, use el film adhesivo proporcionado para sellar las filas ya inoculadas y prevenir derrames de líquido contaminado. Vuelva a introducir el panel sellado en su envoltorio con desecante y consérvelo en nevera (vea ALMACENAMIENTO).

CONTROL DE CALIDAD

Para el control de calidad de ComASP Colistin , emplee las siguientes cepas patrón:

1. *Escherichia coli* ATCC® 25922; NCTC 12241
2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853; NCTC 12903
3. *Escherichia coli* NCTC 13846

Las cepas 1 y 2 son sensibles a colistina, con rangos de CMI aceptables de 0.25–2 µg/ml para *E. coli* y 0.5–4 µg/ml para *P. aeruginosa*. Para *E. coli* NCTC 13846 (mcr-1 positiva), resistente a colistina, el valor MIC debe ser de 4 µg/ml , sólo ocasionalmente de 2 u 8 µg/ml.

CAUSAS DE RESULTADOS INVÁLIDOS

Cultivos contaminados, Inóculo mal estandarizado, Reactivos caducados, Temperaturas y tiempos de incubación incorrectos.

PRECAUCIONES

ComASP Colistin no contiene sustancias nocivas en concentraciones superiores a los límites establecidos por la legislación vigente, por lo que no está clasificado como peligroso. No obstante es recomendable consultar la hoja de datos de seguridad para su uso correcto. ComASP Colistin es un sistema de un solo uso, para diagnóstico *in vitro*. Para uso en laboratorio por personal cualificado, aplicando las practicas adecuadas para el trabajo con agentes patógenos

ALMACENAMIENTO

ComASP Colistin debe ser almacenado a 2-8°C, dentro de su envase original. Una vez abierto el envase, el panel debe ser utilizado en un máximo de 7 días. Mantener alejado de fuentes de calor o de la luz solar directa. No emplear una vez alcanzada la fecha de caducidad indicada en la etiqueta. No emplear si se detectan signos de deterioro.

ELIMINACIÓN DE MATERIAL USADO

Tras su uso, el ComASP Colistin, y todo el material que ha entrado en contacto con la muestra, deben ser descontaminados y eliminados siguiendo los protocolos aprobados por el laboratorio para materiales potencialmente infecciosos

BIBLIOGRAFÍA

1. Carretto E. *et al.* Clinical validation of the SensiTest™ Colistin, a broth microdilution based method to evaluate colistin MICs. J Clin Microbiol. 2018;17. pii: JCM.01523-17. <http://jcm.asm.org/content/early/2018/01/11/JCM.01523-17>
2. Carretto E. *et al.* Detection of mcr-4 positive Salmonella enterica serovar Typhimurium in clinical isolates of human origin, Italy, October to November 2016. Euro Surveill. 2018;23(2):pii=17-00821. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.2.17-00821>
3. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 28th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
4. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
7. ISO 20776-1:2006. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems -- Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices -- Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.

PRESENTACIÓN

Product	µg/ml	Presentación	Ref.
ComASP™ Colistin	0.25 - 16	4x4 test	75001

TABLA DE SÍMBOLOS

IVD Equipo Médico para Diagnóstico <i>In Vitro</i>	 No reutilizar	 Fabricante	 Contiene suficiente para <n> tests	 Límite de temperatura de conservación
REF Referenciar	 Frágil, manejar con cuidado	 Usar antes de	 Precaución, consulte la documentación adjunta.	LOT Lote



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com





ComASP™ Colistin

PORTUGUÊS

Sistema para teste de suscetibilidade de colistina com o método de microdiluição de caldo.

DESCRIÇÃO

Os médicos estão a repensar na colistina como opção terapêutica para o tratamento de infeções graves provocadas por organismos multirresistentes a fármacos, tais como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* e Enterobacteriaceae resistente a carbapenema. Todavia, as estirpes resistentes à colistina estão mundialmente disseminadas, levando à necessidade de determinar o valor de concentração inibitória mínima (MIC) antes do fármaco ser prescrito. Embora vários testes comerciais baseados em técnicas diferentes tenham sido desenvolvidos, a microdiluição de caldo (BMD) é considerada como o melhor método para realizar até agora ensaios de suscetibilidade da colistina.

ComASP Colistin é um painel de 4 testes que contém um antibiótico seco em 7 diluições duplas (0,25-16 µg/ml). O sistema é usado para realizar o método de microdiluição de caldo (BMD) para o ensaio de suscetibilidade antimicrobiana de colistina (polimixina E) conforme recomendado pelas normas internacionais (ou seja, CLSI, EUCAST, ISO), mas de uma forma mais simples e menos demorada.

CONTEÚDO DO KIT

- 4 Sistemas (painéis) de ComASP Colistin (painéis individualmente embalados em folha de alumínio com um dessecante de gel de sílica)
- 16 Tubos de Mueller Hinton II Broth (3,6 ml)
- Película de selagem
- Folha de instruções e formulário de resultados do teste

ITENS NECESSÁRIOS, MAS NÃO INCLUÍDOS NO KIT

- Sulfato de Bário Padrão McFarland 0.5 (ref. 80400)
- Pontas para pipeta multicanal (ref.96758)
- Reservatório de solução para pipeta de múltiplos canais (ref. 96761)
- Pipeta multicanal 30-300 µl (ref.96759)
- Soro Fisiológico (ref. 20095)

CONFIGURAÇÃO

Teste	Concentração de Colistina (µg/ml)						
A							
Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
B							
Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
C							
Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16
D							
Growth	0.25	0.5	1	2	4	8	16

"Growth" indica controlo de crescimento: nenhum agente antimicrobiano no poço.

PRINCÍPIO DO MÉTODO

Um painel permite o ensaio de suscetibilidade de 4 isolados diferentes.

Todos os poços numa simples linha (A, B, C ou D) são reidratados com uma suspensão microbiana padronizada. Após a incubação em termostato, o resultado é lido e interpretado.

COLHEITA E ARMAZENAMENTO DA AMOSTRA

ComASP Colistin não se destina a ser usado diretamente com espécimes clínicos ou outros. O microorganismo a ser testado deve ser, em primeiro lugar, isolado num meio de cultura adequado, não seletivo. Em caso de cultura mista, as colónias selecionadas deverão ser purificadas através de subcultura.

PROCEDIMENTO DE TESTE

1. Retire um painel do seu envelope e deixe-o à temperatura ambiente durante 10 min, NÃO DESCARTE O ENVELOPE, até que os 4 testes tenham sido realizados.
2. Prepare uma suspensão para o organismo de teste, utilizando a suspensão de colônia direta ou o método de crescimento.
3. Padronize a suspensão para a densidade de um padrão McFarland 0.5.
4. Idealmente ao fim de 15 minutos de preparação, dilua a suspensão ajustada 1:20 em soro fisiológico; esta será a **Solução A**.
5. Acrescente 0,4 ml de Solução A num tubo de MH II Broth* disponibilizado no kit para obter a **Solução B**.
6. Dispense 100 µl e Solução B em cada poço de seguida.
7. Tape o painel com a tampa disponibilizada e incube a $36 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 16 a 20 horas em atmosfera ambiente.

* Mueller Hinton II Broth (g/l): Extrato de carne bovina 3,0 g; Hidrolisado ácido de caseína 17,5 g; Amido 1,5 g; Água destilada 1000 ml; pH 7.3 ± 0.1
(ajustado com sais adequados para fornecer 20 a 25 mg/l de cálcio e 10 a 12,5 mg/l de magnésio)

LEITURA DOS RESULTADOS

No final do período de incubação observe o crescimento nos poços e estabeleça o MIC, ou seja, a concentração mais baixa de antibiótico que inibe o crescimento visível.

O resultado pode ser lido visual ou automaticamente. A leitura a olho nu pode ser melhorada através da utilização de luz indireta brilhante contra um fundo preto.

O crescimento aparece como turvação ou como um botão no fundo do poço (compare com o valor de crescimento no poço de controlo de crescimento).

O poço de controlo de crescimento deve ser avaliado em primeiro lugar. Certifique-se de que é positivo para o crescimento. Se não, verifique a viabilidade das colónias apanhadas e repita o teste, usando uma nova linha no mesmo painel ou um novo painel e uma cultura microbiana de crescimento recente.

Anote os resultados no formulário de resultados de teste incluído no kit (copie o formulário as vezes que forem necessárias).

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

O MIC obtido deve ser interpretado de acordo com os critérios atuais de interpretação de EUCAST ou CLSI.

NOTA: Cada painel simples pode ser utilizado até quatro vezes. Se tiverem sido realizados menos de 4 testes, use a película fornecida no kit para selar as linhas inoculadas, de modo a prevenir qualquer fuga de fluídos contaminados. De seguida, volte a colocar o painel no seu próprio envelope de dessecante e no frigorífico (ver ARMAZENAMENTO).

CONTROLO DE QUALIDADE DO UTILIZADOR

O controlo e qualidade de ComASP Colistin é realizado, utilizando as seguintes estirpes de referência:

1. *Escherichia coli* ATCC® 25922; NCTC 12241
2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853; NCTC 12903
3. *Escherichia coli* NCTC 13846

As estirpes 1 e 2 são ambas suscetíveis à colistina e o intervalo aceitável de MIC é de 0,25–2 µg/ml para *E. coli* e 0,5–4 µg/ml para *P. aeruginosa*. Para *E. coli* NCTC 13846 (mcr-1 positivo), que, por sua vez, é resistente à colistina, o valor alvo do MIC é de 4 µg/ml e só ocasionalmente deverá ser de 2 ou 8 µg/ml.

FATORES QUE PODEM INVALIDAR OS RESULTADOS

Cultura contaminada; pobre padronização do inóculo; material clínico não adequado; uso de painéis expirados ou reagentes suplementares expirados; não conformidade com temperaturas e tempos de incubação.

PRECAUÇÕES

O produto ComASP Colistin não contém substâncias perigosas na concentração que excedam os limites definidos pela legislação atual e, por isso, não é classificado como perigoso. Não obstante, recomenda-se que consulte a ficha de dados de segurança para o seu uso correto. ComASP Colistin é um dispositivo descartável que se destina a ser usado apenas para uso de diagnóstico *in vitro*. O produto deve ser usado no laboratório por pessoal devidamente formado, usando métodos aprovados assépticos e de segurança para o manuseio de agentes patogénicos.

ARMAZENAMENTO

Guarde ComASP Colistin entre 2 e 8°C na embalagem original. Uma vez que o envelope está aberto o painel deve ser utilizado no prazo de 7 dias. Mantenha afastado da luz direta do sol e do calor direto. Não use os painéis para além da data de validade indicada no rótulo. Descarte sem utilizar se existir sinais de deterioração.

DESCARTE DE MATERIAL USADO

Após a utilização, ComASP Colistin e o material que tenha entrado em contacto com a amostra deve ser descontaminado e descartado de acordo com as diretrizes utilizadas no laboratório para descontaminação e descarte de material potencialmente infetado.

REFERÊNCIAS

1. Carretto E. *et al.* Clinical validation of the SensiTest™ Colistin, a broth microdilution based method to evaluate colistin MICs. J Clin Microbiol. 2018;17. pii: JCM.01523-17. <http://jcm.asm.org/content/early/2018/01/11/JCM.01523-17>
2. Carretto E. *et al.* Detection of mcr-4 positive Salmonella enterica serovar Typhimurium in clinical isolates of human origin, Italy, October to November 2016. Euro Surveill. 2018;23(2):pii=17-00821. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.2.17-00821>
3. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 28th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
4. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
7. ISO 20776-1:2006. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems -- Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices -- Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.

APRESENTAÇÃO

Produto	µg/ml	Embalagem	Ref.
ComASP™ Colistin	0.25 - 16	4x4 testes	75001

TABELA DE SÍMBOLOS

IVD Dispositivo médico para diagnóstico In Vitro	 Não reutilizar	 Fabricante	 Contém o suficiente para <n> testes	 Limites de temperatura
REF Número de catálogo	 Frágil, manusear com cuidado	 Usar até	 Cuidado, consulte os documentos anexos	LOT Código do lote



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com





ComASP™ Colistin

DEUTSCH

System zur Colistin-Empfindlichkeitsprüfung mit der Bouillon-Mikrodilution-Methode.

BESCHREIBUNG

Mediziner überdenken die Möglichkeit von Colistin als Therapieoption für die Behandlung schwerer Infektionen durch multiresistente Keime wie *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* und Carbapenem-resistente Enterobakterien. Colistin-resistente Stämme sind jedoch auf der ganzen Welt verbreitet. Daher ist es erforderlich, den Wert der minimalen Hemmstoffkonzentration (MHK) zu bestimmen, bevor das Medikament verschrieben wird. Obwohl diverse kommerzielle Tests auf Basis unterschiedlicher Verfahren entwickelt wurden, gilt die Bouillon-Mikrodilution (BMD) als bislang beste Methode für die Durchführung von Colistin-Empfindlichkeitsprüfungen.

ComASP Colistin ist eine 4-Test-Platte mit dem getrockneten Antibiotikum in 7 Zweifach-Verdünnungen (0,25–16 µg/ml). Das System dient der Durchführung von Tests nach der Bouillon-Mikrodilution-Methode für die Antibiotikaempfindlichkeitsprüfung von Colistin (Polymyxin E), wie nach internationalen Normen (d.h. CLSI, EUCAST, ISO) empfohlen, jedoch auf einfachere und weniger zeitaufwendige Art und Weise.

INHALT DES SETS

- 4 Systeme (Platten) ComASP Colistin
(Platten einzeln in Folie verpackt mit Trockenmittel Kieselgel)
- 16 Röhren Mueller Hinton II Bouillon (3,6 ml)
- Versiegelungsfolie
- Gebrauchsanleitung und Testergebnisformular

ERFORDERLICHE, ABER NICHT IN DER PACKUNG ENTHALTENE AUSRÜSTUNG

- McFarland 0,5 Bariumsulfat Standard (ref. 80400)
- Spitzen für die Mehrkanalpipette (ref. 96758)
- Reagenzreservoir für die Mehrkanalpipette (ref. 96761)
- Mehrkanalpipette 30-300 µl (ref. 96759)
- Physiologische Lösung (ref. 20095)

KONFIGURATION

Test	Colistin-Konzentration (µg/ml)						
A Wachstum	0.25	0.5	1	2	4	8	16
B Wachstum	0.25	0.5	1	2	4	8	16
C Wachstum	0.25	0.5	1	2	4	8	16
D Wachstum	0.25	0.5	1	2	4	8	16

Wachstum bezeichnet die Wachstumskontrolle: Kein antimikrobieller Wirkstoff in der Vertiefung.

TESTPRINZIP

Eine Platte ermöglicht die Empfindlichkeitsprüfung von 4 verschiedenen Isolaten. Alle Vertiefungen in einer Reihe (A, B, C oder D) werden mit einer genormten mikrobiellen Suspension rehydriert. Nach der Bebrütung im Thermostat wird das Ergebnis abgelesen und interpretiert.

ENTNAHME UND LAGERUNG DER PROBE

ComASP Colistin ist nicht für die direkte Verwendung mit klinischen oder anderen Proben gedacht. Der zu prüfende Mikroorganismus muss zunächst auf einem geeigneten, nichtselektiven Kulturmedium isoliert werden. Im Fall einer Mischkultur sollten ausgewählte Kolonien durch Subkultivieren purifiziert werden.

TESTVERFAHREN

1. Eine Platte aus ihrem Umschlag nehmen und 10 Minuten bei Raumtemperatur liegen lassen.
DEN UMSCHLAG NICHT WEGWERFEN, bis alle 4 Tests durchgeführt wurden.
2. Entweder mithilfe der direkten Koloniesuspension oder der Wachstumsmethode eine Suspension des Testorganismus herstellen.
3. Die Suspension auf eine Dichte von McFarland-Standard 0,5 standardisieren.
4. Die angepasste Suspension optimal innerhalb von 15 Minuten nach der Herstellung 1:20 in Kochsalzlösung verdünnen, um **Lösung A** zu erhalten.
5. 0,4 ml von Lösung A in ein im Set enthaltenes Röhrchen mit MH II Bouillon* geben, um **Lösung B** zu erhalten.
6. 100 µl von Lösung B in jede Vertiefung einer Reihe dosieren.
7. Die Platte mit dem mitgelieferten Deckel abdecken und 16 bis 20 Stunden bei 36 ± 2 °C in Umgebungsluft bebrüten.

* Mueller Hinton II Bouillon (g/l): Rinderextrakt 3,0 g; Kasein-Säurehydrolysat 17,5 g; Stärke 1,5 g; destilliertes Wasser 1000 ml
pH 7.3 ± 0.1
(angepasst mit geeigneten Salzen, um 20 bis 25 mg/l Kalzium und 10 bis 12,5 mg/l Magnesium zu erhalten)

ERGEBNISSE ABLESEN

Am Ende der Bebrütungszeit das Wachstum in den Vertiefungen beobachten und die MHK, d.h. die niedrigste Konzentration des Antibiotikums, die sichtbares Wachstum hemmt, ermitteln.

Das Ergebnis kann visuell oder automatisch abgelesen werden. Ein Ablesen mit dem bloßen Auge kann durch Zuhilfenahme von hellem indirektem Licht gegen einen dunklen Hintergrund verbessert werden.

Wachstum erscheint als Trübung oder als Knopf am Grund der Vertiefung (mit der Menge Wachstum in der Wachstumskontrollvertiefung vergleichen).

Die Wachstumskontrollvertiefung sollte zuerst bewertet werden. Stellen Sie sicher, dass sie wachstumspositiv ist. Andernfalls die Lebensfähigkeit der ausgewählten Kolonien prüfen und den Test mit einer neuen Reihe in derselben Platte oder einer neuen Platte und einer frisch gewachsenen mikrobiellen Kultur wiederholen.

Die Ergebnisse auf dem im Set enthaltenen Testergebnisformular notieren (Sie können so viele Formulare wie nötig kopieren).

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

Die erreichte MHK sollte gemäß aktuellen EUCAST oder CLSI Auslegungskriterien interpretiert werden.

HINWEIS: Jede einzelne Platte kann bis zu vier Mal verwendet werden. Wenn weniger als 4 Tests durchgeführt wurden, die im Set mitgelieferte Folie verwenden, um die beimpften Reihen zu versiegeln und ein Auslaufen kontaminierter Flüssigkeiten zu verhindern. Dann die Platte wieder in ihren Trockenmittelumschlag geben und im Kühlschrank verstauen (siehe LAGERUNG).

QUALITÄTSKONTROLLE DURCH DEN NUTZER

Die Qualitätskontrolle für ComASP Colistin erfolgt unter Einsatz der folgenden Referenzstämme:

1. *Escherichia coli* ATCC® 25922; NCTC 12241
2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853; NCTC 12903
3. *Escherichia coli* NCTC 13846

Stamm 1 und 2 sind beide anfällig für Colistin und der annehmbare MHK-Bereich liegt bei 0,25 bis 2 µg/ml für *E. coli* sowie 0,5 bis 4 µg/ml für *P. aeruginosa*. Für *E. coli* NCTC 13846 (MCR-1-positiv), der resistent gegen Colistin ist, beträgt der MHK-Zielwert 4 µg/ml und sollte nur gelegentlich bei 2 oder 8 µg/ml liegen.

FAKTOREN, DIE DAS ERGEBNIS VERFÄLSCHEN KÖNNEN

Kontaminierte Kultur; schlechte Standardisierung des Inokulums; klinisches Material ungeeignet; Verwendung abgelaufener Platten oder abgelaufener zusätzlicher Reagenzien; Nichteinhaltung von Temperaturen und Zeiten bei der Bebrütung.

WARNHINWEISE

Das Produkt ComASP Colistin enthält keine Gefahrstoffe in Konzentrationen, die über die von geltenden Gesetzen festgelegten Grenzen hinausgehen, und ist daher als nicht gefährlich klassifiziert. Es wird dennoch empfohlen, für die korrekte Anwendung das Sicherheitsdatenblatt zu konsultieren. ComASP Colistin ist ein Einmal-Produkt, das nur als *In-Vitro*-Diagnostikum verwendet werden darf. Das Produkt muss in einem Labor von ordnungsgemäß geschultem Personal unter Verwendung anerkannter Methoden in Bezug auf Keimfreiheit und Sicherheit beim Umgang mit Krankheitserregern eingesetzt werden.

LAGERUNG

ComASP Colistin bei 2 bis 8°C in der Originalverpackung aufbewahren. Nach Öffnen eines Umschlags sollte die entsprechende Platte innerhalb von 7 Tagen verwendet werden. Von direkter Sonneneinstrahlung und direkter Wärmeeinwirkung fernhalten. Die Platten nach dem Verfallsdatum auf dem Etikett nicht mehr verwenden. Bei Anzeichen einer Beeinträchtigung ohne Verwendung entsorgen.

ENTSORGUNG GEBRAUCHTER MATERIALIEN

ComASP Colistin sowie mit der Probe in Kontakt gekommenes Material müssen nach der Verwendung gemäß den im Labor geltenden Richtlinien für Dekontamination und Entsorgung von potenziell infektiösen Materialien dekontaminiert und entsorgt werden.

REFERENZEN

1. Carretto E. et al. Clinical validation of the SensiTest™ Colistin, a broth microdilution based method to evaluate colistin MICs. J Clin Microbiol. 2018;17. pii: JCM.01523-17. <http://jcm.asm.org/content/early/2018/01/11/JCM.01523-17>
2. Carretto E. et al. Detection of mcr-4 positive Salmonella enterica serovar Typhimurium in clinical isolates of human origin, Italy, October to November 2016. Euro Surveill. 2018;23(2):pii=17-00821. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.2.17-00821>
3. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 28th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
4. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
7. ISO 20776-1:2006. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems -- Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices -- Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.

PACKUNGSGRÖSSEN

Produkt	µg/ml	Verpackung	Ref.
ComASP™ Colistin	0.25 - 16	4x4 test	75001

SYMBOLTABELLE

IVD <i>In-vitro</i> -Diagnostikum, Medizinprodukt	 Nicht wiederverwenden	 Hersteller	 Enthält Material für <n> Tests	 Temperaturbeschränkung
REF Katalognummer	 Zerbrechlich, mit Vorsicht behandeln	 Haltbar bis	 Achtung, beiliegende Dokumente beachten	LOT Chargennummer



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com





ComASP™ Colistin

Système de test de sensibilité à la colistine avec la méthode de micro-dilution en bouillon.

DESCRIPTION

La colistine est l'une des options thérapeutiques pour le traitement des infections graves causées par des microorganismes multirésistants tels que *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et Enterobacteriaceae résistantes aux carbapénèmes. Cependant, les souches résistantes à la colistine étant disséminées dans le monde entier, il est nécessaire de déterminer la valeur de la concentration minimale inhibitrice (CMI) avant de prescrire le médicament. Bien que différents types de tests aient été développés et soient disponibles dans le commerce, la microdilution en bouillon (BMD) est considérée comme la meilleure méthode pour effectuer le test de sensibilité à la colistine.

ComASP Colistin est un dispositif contenant l'antibiotique desséché en concentrations scalaires (0,25 - 16 µg / ml); chaque plaque permet d'effectuer 4 tests. Le système est utilisé pour réaliser l'antibiogramme selon la méthode de micro-dilution en bouillon (BMD) pour l'antibiotique de la colistine (polymyxine E), conformément aux recommandations des normes internationales (CLSI, EUCAST, ISO), mais de manière plus simple et rapide.

CONTENU DU KIT

- 4 systèmes (plaques) de ComASP Colistin (plaques emballées individuellement dans un sachet de gel dessicant)
- 16 tubes de bouillon Mueller Hinton II (3,6 ml)
- Film adhésif
- Instructions d'utilisation et formulaire de collecte de données

PRODUITS NECESSAIRES QUI NE SONT PAS CONTENUS DANS LE KIT

- Etalon McFarland 0.5 Barium Sulphate (réf.80400)
- Pointes de pipettes multicanaux (réf.96758)
- Réservoir pour solution d'inoculum pour pipette multicanaux (réf. 96761)
- Pipette multicanaux 30-300 µl (réf. 96759)
- Solution physiologique (réf. 20095)

CONFIGURATION

Test	Concentration Colistine (µg/ml)						
A Croissance	0.25	0.5	1	2	4	8	16
B Croissance	0.25	0.5	1	2	4	8	16
C Croissance	0.25	0.5	1	2	4	8	16
D Croissance	0.25	0.5	1	2	4	8	16

"Croissance" indique le contrôle de la croissance: puits ne contenant pas l'agent antimicrobien.

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Une plaque permet de réaliser le test de sensibilité sur 4 isolats différents.

Tous les puits d'une rangée horizontale (A, B, C ou D) sont réhydratés avec une suspension microbienne standardisée. Les résultats sont lus et interprétés après incubation dans une étuve.

COLLECTE ET CONSERVATION DE L'ÉCHANTILLON

Le ComASP Colistin n'est pas utilisé directement sur des échantillons cliniques. Les organismes à tester doivent être isolés sur un milieu de culture non sélectif approprié. En cas de cultures mixtes, les colonies sélectionnées doivent être purifiées par sous-culture.

PROCEDURE DU TEST

1. Prélever une plaque du sachet en aluminium et laisser revenir la plaque à température ambiante pendant 10 minutes. NE PAS ELIMINER LE SACHET EN ALUMINIUM jusqu'à ce que les 4 plaques aient été utilisées.
2. Préparer une suspension du microorganisme à tester en utilisant la suspension de colonies directes ou la méthode de croissance.
3. Normaliser la suspension à une densité de 0,5 McFarland.
4. Dans les 15 minutes après la préparation, diluer la suspension au 1:20 dans une solution saline; ce sera la **solution A**.
5. Transférer 0,4 ml de solution A dans un tube de bouillon MH II * fourni dans le kit pour obtenir la **solution B**.
6. Déposer 100 µl de Solution B dans chaque puits d'une rangée horizontale.
7. Couvrir la plaque avec le couvercle fourni et incuber à 36 ± 2 ° C pendant 16-20 heures dans une atmosphère aérobie.

* Mueller Hinton II Broth (g/l):	Hydrolysate acide de caséine 17,5 g; Amidon 1,5 g; Eau distillée 1000 ml; pH $7,3 \pm 0,1$ (formulation compensée et / ou corrigée avec des sels adéquats pour obtenir 20-25 mg/l de calcium et 10-12,5 mg/l de magnésium).
----------------------------------	---

LECTURE DES RÉSULTATS

À la fin de la période d'incubation, observez la croissance des puits et établissez la CMI, la concentration d'antibiotique la plus faible capable d'inhiber la croissance visible.

Le résultat peut être lu visuellement ou automatiquement. La lecture à l'œil nu peut être facilitée en utilisant une lumière indirecte et brillante sur un fond sombre.

La croissance apparaît sous forme de turbidité ou de dépôt au fond du puits (à comparer avec la croissance dans le puits de contrôle).

Vérifiez le contrôle et assurez-vous qu'il est positif pour la croissance. Si le résultat est négatif, vérifiez la viabilité des colonies collectées et répétez le test en utilisant une autre rangée dans la même plaque ou une nouvelle plaque et une culture microbienne fraîche.

Notez les résultats sur le formulaire de collecte de données inclus dans le kit (photocopiez autant de fois que nécessaire).

INTERPRETATION DES RÉSULTATS

La valeur CMI obtenue doit être interprétée conformément aux critères fournis par EUCAST, CLSI ou d'autres normes de référence.

REMARQUES: Chaque plaque peut être utilisée jusqu'à 4 fois. Si moins de 4 tests ont été effectués, utilisez le film adhésif inclus dans le kit pour sceller les rangées de puits inoculés afin d'éviter tout déversement de fluides contaminés. Réinsérez donc la plaque dans son sachet avec dessicant et placez-le au réfrigérateur (voir la section CONSERVATION).

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Le contrôle de la qualité du ComASP Colistin est effectué en utilisant des souches de référence suivantes:

1. *Escherichia coli* ATCC® 25922; NCTC 12241
2. *Pseudomonas aeruginosa* ATCC® 27853; NCTC 12903
3. *Escherichia coli* NCTC 13846

Les souches 1 et 2 sont sensibles à la colistine et l'intervalle d'acceptation est de 0,25 à 2 µg / ml pour *E. coli* et de 0,5 à 4 µg / ml pour *P. aeruginosa*. Pour *E. coli* NCTC 13846 (mcr-1 positif), qui est plutôt résistante, la valeur cible de la CMI est de 4 µg / ml et ne devrait être qu'occasionnellement de 2 ou 8 µg / ml.

FACTEURS QUI PEUVENT INVALIDER LES RÉSULTATS

Cultures contaminées; mauvaise standardisation de l'inoculum; matériel clinique inapproprié; utilisation de plaques périmées ou de réactifs supplémentaires périmés; non-respect des températures et des temps d'incubation.

PRÉCAUTIONS

Le produit ComASP Colistin ne contient pas de substances nocives à des concentrations supérieures aux limites fixées par la législation en vigueur et n'est donc pas classé comme dangereux. Néanmoins, il est recommandé de consulter la fiche de données de sécurité pour une utilisation correcte. ComASP Colistin est un dispositif à usage unique destiné uniquement à un usage de diagnostic in vitro. Le produit doit être utilisé en laboratoire par des opérateurs dûment formés, appliquant des méthodes approuvées d'asepsie et de sécurité vers les agents pathogènes.

CONSERVATION

Conservez le ComASP Colistin entre 2 et 8 ° C dans son emballage d'origine. Une fois que le sachet est ouvert, la plaque à l'intérieur doit être utilisée dans les 7 jours. Tenir à l'écart de la lumière directe du soleil et des sources de chaleur. N'utilisez pas les plaques au-delà de la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Ne pas utiliser et éliminer s'il y a des signes de détérioration.

ELIMINATION DU MATERIEL UTILISÉ

Après utilisation, le ComASP Colistin et le matériel entrant en contact avec l'échantillon doivent être décontaminés et éliminés conformément aux protocoles de laboratoire.

RÉFÉRENCES

1. Carretto E. *et al.* Clinical validation of the SensiTest™ Colistin, a broth microdilution based method to evaluate colistin MICs. J Clin Microbiol. 2018;17. pii: JCM.01523-17. <http://jcm.asm.org/content/early/2018/01/11/JCM.01523-17>
2. Carretto E. *et al.* Detection of mcr-4 positive Salmonella enterica serovar Typhimurium in clinical isolates of human origin, Italy, October to November 2016. Euro Surveill. 2018;23(2):pii=17-00821. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2018.23.2.17-00821>
3. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 28th ed. CLSI Supplement M100S. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
4. CLSI. Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; 11th ed. CLSI standard M07. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2018.
5. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
6. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Routine and extended internal quality control for MIC determination and disk diffusion as recommended by EUCAST. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
7. ISO 20776-1:2006. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems -- Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices -- Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.

PRESENTATION

Produit	µg/ml	Emballage	Réf.
ComASP™ Colistin	0.25 - 16	4x4 tests	75001

TABLE DES SYMBOLES

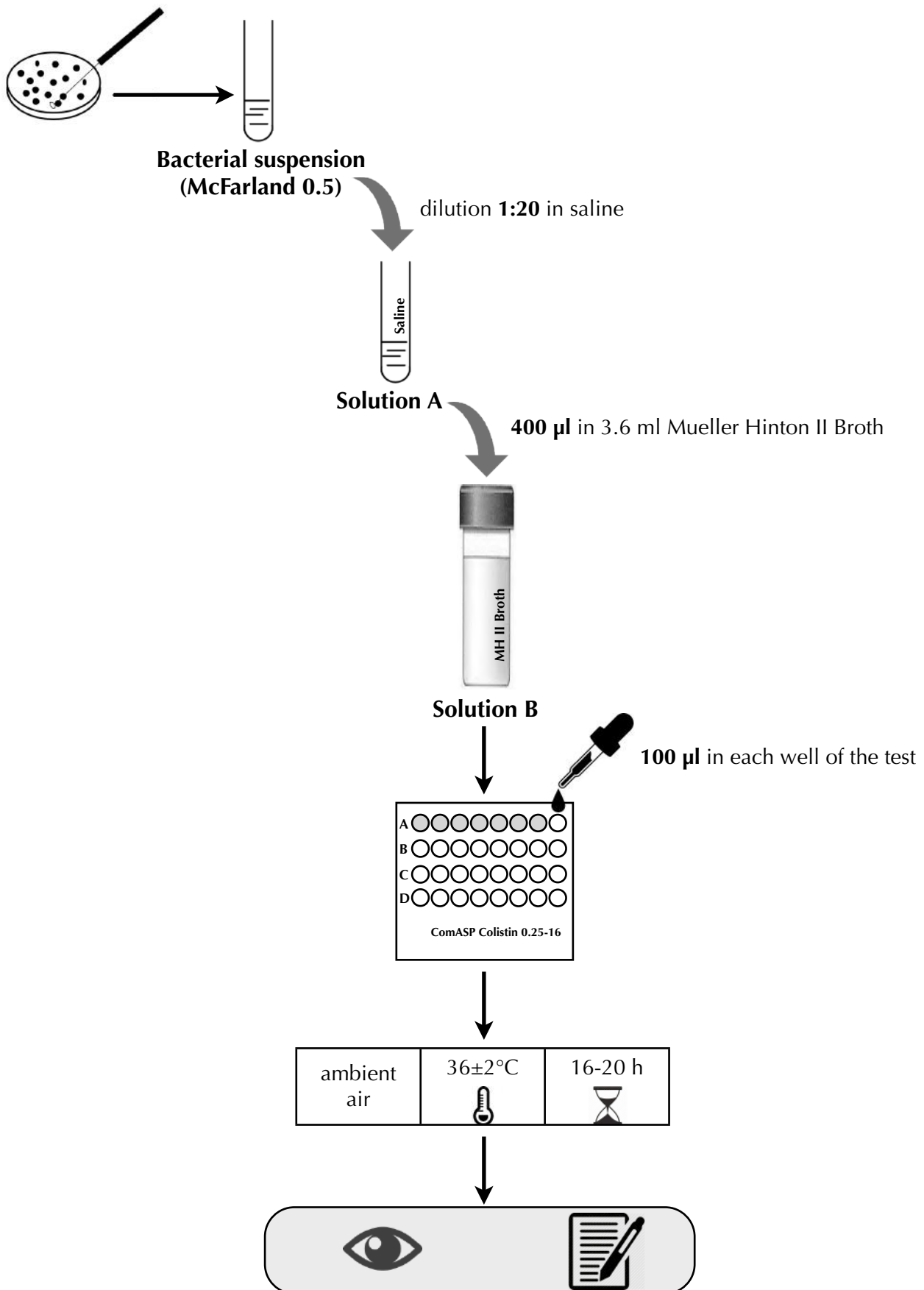
IVD Dispositif médical Diagnostic In Vitro	 Ne pas réutiliser	 Fabricant	 Contenu suffisant pour <n> tests	 Température limite
REF Numéro de catalogue	 Fragile, manipulez avec soin	 Utiliser par	 Attention, consultez les documents à l'intérieur	LOT Numéro de lot



LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com





LIOFILCHEM® s.r.l.

Via Scozia zona ind.le, 64026 Roseto degli Abruzzi (Te) Italy
Tel. +39 0858930745 Fax +39 0858930330 www.liofilchem.com



F00050