

INDEX, ÍNDICE, ΕΥΡΕΤΗΡΙΟ	
1-20	ENGLISH
21 -41	ESPAÑOL
42 -61	ITALIANO
62 -82	DEUTSCHE
83 - 102	CZECH
103 - 124	ΕΛΛΗΝΙΚΟ
125 - 145	FRANÇAIS
146 -166	POLSKI
167 - 185	中文



Instructions for Use

Thermo Scientific Sensititre™ YeastOne™ YO10 & ITAMYUCC Susceptibility Plates

<i>Sensititre™ YeastOne™ YO10 & ITAMYUCC</i>	
Revision Date:	<i>August 2024</i>

THERMO SCIENTIFIC SENSITITRE YEASTONE SUSCEPTIBILITY PLATES – YO10 & ITAMYUCC

For *in vitro* Diagnostic Use

Sensititre plates are 96-well microtitre plates, available in both standard and custom formats. Multiple antimicrobials/antifungals are available in various dilution ranges (on a wide variety of plate formats). Sensititre YeastOne Plates are used to determine MIC (Minimum Inhibitory Concentration).

After inoculation with a standardised suspension of organisms, the plate is covered with an adhesive seal, and incubated at 35°C for 24 hours. The MICs for the test organisms are read visually with respect to a colourimetric change in order to determine the lowest antifungal concentration that inhibits the growth of the isolate.

This instruction for use (IFU) document covers two plates from the Sensititre YeastOne range, YO10 and ITAMYUCC, which will be referred to as 'the plate'. Unless specifically stated, all information is applicable to both plates.

Intended Use

YO10 and ITAMYUCC are *in vitro* diagnostic devices intended for use with cultured samples from patients suspected of having yeast infection.

The plate is a semi-quantitative test for susceptibility testing of clinical isolates of *Candida* spp. Used in a diagnostic workflow to aid clinicians in determining potential treatment options for patients suspected of having a yeast infection, the device is not automated and requires a pure, agar grown culture. This device is for professional use only and is not a companion diagnostic.

Principles of Method

The clinical specimen, once isolated and purified from the patient specimen, is inoculated at a known cell density into a growth medium and incubated for 24 hours in the presence of a suitable range of antifungal concentrations. The lowest concentration of the log dilution range that does not show colour change is considered to be the MIC. This MIC can then be linked to a positive therapeutic treatment, utilizing regulatory approved breakpoint concentrations, based on the identification of the organism and body site of the infection. The intended user can then use this information to decide the best course of action based on this and other patient specific information.

Materials Provided

- 10 x Sensititre plates
- 10 x Adhesive seals

Plate layouts

Please refer to figures 1 and 2 for antimicrobial positioning and concentration (µg/ml). For drug abbreviations please refer to table 1.

Figure 1: Drug layout and concentrations in Sensititre YO10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0.015	AND 0.03	AND 0.06	AND 0.12	AND 0.25	AND 0.5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0.12
B	MF 0.008	MF 0.015	MF 0.03	MF 0.06	MF 0.12	MF 0.25	MF 0.5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0.25
C	CAS 0.008	CAS 0.015	CAS 0.03	CAS 0.06	CAS 0.12	CAS 0.25	CAS 0.5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0.5
D	FC 0.06	FC 0.12	FC 0.25	FC 0.5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AB 1
E	PZ 0.008	PZ 0.015	PZ 0.03	PZ 0.06	PZ 0.12	PZ 0.25	PZ 0.5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0.008	VOR 0.015	VOR 0.03	VOR 0.06	VOR 0.12	VOR 0.25	VOR 0.5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0.015	IZ 0.03	IZ 0.06	IZ 0.12	IZ 0.25	IZ 0.5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0.12	FZ 0.25	FZ 0.5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Figure 2: Drug layout and concentrations in Sensititre ITAMYUCC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0.015	AND 0.03	AND 0.06	AND 0.12	AND 0.25	AND 0.5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0.12
B	MF 0.008	MF 0.015	MF 0.03	MF 0.06	MF 0.12	MF 0.25	MF 0.5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0.25
C	CAS 0.008	CAS 0.015	CAS 0.03	CAS 0.06	CAS 0.12	CAS 0.25	CAS 0.5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0.5
D	ISA 0.008	ISA 0.015	ISA 0.03	ISA 0.06	ISA 0.12	ISA 0.25	ISA 0.5	ISA 1	ISA 2	ISA 4	ISA 8	AB 1
E	PZ 0.008	PZ 0.015	PZ 0.03	PZ 0.06	PZ 0.12	PZ 0.25	PZ 0.5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0.008	VOR 0.015	VOR 0.03	VOR 0.06	VOR 0.12	VOR 0.25	VOR 0.5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0.015	IZ 0.03	IZ 0.06	IZ 0.12	IZ 0.25	IZ 0.5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0.12	FZ 0.25	FZ 0.5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Table 1: Abbreviations of antimicrobics used in YO10 and ITAMYUCC

Abbreviation	Antimicrobics
POS	Positive Control
MF	Micafungin
CAS	Caspofungin
FC	5-Flucytosine
PZ	Posaconazole
VOR	Voriconazole
IZ	Itraconazole
FZ	Fluconazole
AND	Anidulafungin
AB	Amphotericin B
ISA	Isavuconazole

Materials Required But Not Provided

For a list of materials not provided with the device but required to correctly operate Sensititre YeastOne YO10 & ITAMYUCC plates, please refer to table 2.

Table2: *Description of materials not provided with Sensititre YeastOne plates*

Component	Product code	Description
Sensititre YeastOne Broth	Y3462	11ml Yeast broth for use with Sensititre YeastOne plates
Sensititre Demineralised Water	T3339	5ml demineralised water for use with Sensititre plates.
0.5 McFarland Turbidity Standard	E1041	Standard used for preparing bacterial suspensions
Bacteriological Loop	N/A	Inoculating loop for use in bacterial culture & preparation
20µl Pipette and Disposable Tips	N/A	A laboratory tool commonly used to transport and dispense a measured volume of liquid within a disposable tip
Sterile Inoculum Reservoir	N/A	Sterile reservoir to hold microbial suspensions
100µl Pipette and Disposable Tips	N/A	A laboratory tool commonly used to transport and dispense a measured volume of liquid within a disposable tip

Optional Instruments Not Provided

Instruments that can be used with Sensititre YeastOne plates, but are not essential, are listed below:

Table 3: *Optional Instruments that may be used with Sensititre YeastOne Plates*

Component	Product Code	Description
Sensititre Nephelometer	V3011	The Sensititre Nephelometer is used for standardizing the inoculum density of a fungal suspension. Light from an ultra-bright light emitting diode (LED) is scattered by particles or microbial cells in suspension and detected by a photodiode. The quantity of scattered light is compared with a reference value obtained by calibrating the Nephelometer with a 0.5 McFarland turbidity standard
Thermo Scientific Sensititre AIM™ (Automated Inoculation Delivery System)	V3020	The Sensititre AIM is a microprocessor-controlled instrument that rapidly delivers inoculum in multiples of 50µl to a 96-well microtitration plate.
Thermo Scientific Sensititre Dosing Heads	E3010	Disposable used with the AIM to deliver inoculum to each well of the Sensititre plate.
Manual Viewer	V4007	Mirrored manual viewbox for performing simple visual reads of Sensititre plates
Thermo Scientific Sensititre Digital MIC Viewing System	V2021	The Vizion is an instrument that takes a digital image of a Sensititre susceptibility plate and sends it to the SWIN software so that the results are displayed at a SWIN PC and can be read by the user. The Vizion is linked via a supplied cable to a USB port on a computer (PC) running the SWIN software.

Storage, Shelf Life and Handling Conditions

Plates should be stored at room temperature (15-25°C) away from direct sunlight and direct heat. Each plate is packaged in foil with a silica gel desiccant. Do not use the plate if (1) the desiccant colour is not orange, (2) the expiration date has passed, or (3) the foil pouch is damaged. Inoculate plate within 5 hours of removal from pouch.

Warning and Precautions

Results should be used as an aid in selecting the drug of choice for treatment. Only trained personnel should operate the system. Proper organism handling and disposal methods should be used. If the foil packaging is damaged or the desiccant is not orange, do not use the device.

When applying the adhesive seal, avoid creasing as this may cause erroneous result or “well skips”. A blue well in a series of pink growth wells indicates a skip/erroneous result and should be ignored. The MIC should be read above any skipped wells. If there is more than one skipped well, the antifungal should not be reported.

Follow incubation procedures listed below as incubation temperatures over 35°C may affect performance.

There are no reasonably foreseeable external influences that will impact the correct working of this device during routine use. The device is sensitive to humidity and temperature and should be used in accordance with the proper storage and handling conditions stated in this IFU and on the packaging.

There is some residual risk of user or environment being exposed to toxic/hazardous/ infectious materials. These risks are mitigated by trained clinical professionals using the device, following established precautions for microbial hazards and the warnings listed in the Safety Data Sheet (SDS) and IFU.

The device does not contain CMR, endocrine disrupting substances or materials likely to result in an allergic reaction under normal use.

There is no infectious material included with the device. Cultures, containers and other contaminated materials must be sterilised after use in accordance with guidelines for the handling and disposal of biohazardous waste.

Refer to the SDS available at www.trekds.com/techinfo for safe handling and disposal of the product.

Interfering substances and limitations

1. Sensititre YeastOne Plates YO10 and ITAMYUCC are for use with *Candida* species only. They are not intended for *Cryptococcus* species, *Aspergillus* species and miscellaneous rapid growing yeast species. They are not intended for fastidious or slow growing yeast such as *Histoplasma* species or *Blastomyces* species, and filamentous fungi.
2. Due to the low performance of fluconazole, anidulafungin and voriconazole with *C. tropicalis*, isolates of *C. tropicalis* should be tested with an alternate method.
Comparison between the Sensititre YeastOne System at 24 hours and the CLSI reference method at 48 hours was evaluated. However, due to the difficulty in correlating end points of trailing organisms (*C. albicans*) at 48 hours incubation, high error rates were observed. The CLSI official standards, M27-Ed4 2017 recommends that readings should be performed at 24 hours for clinical isolates and QC strains.
3. Testing of fungi and antifungal agents is inherently less precise than testing bacteria.
4. For additional guidance, refer to CLSI Antifungal Susceptibilities for yeast, Standard M27.
5. Colour change is the indicator of the end point, not turbidity. This feature helps address concerns with the interpretation of certain *Candida* species because of 'trailing'. Trailing is more commonly seen with isolates other than those of blood and other sterile body fluids.
6. Do not read at 24 hours if the control well has not undergone a complete colour change from blue to pink.
7. Use only with Sensititre System approved yeast susceptibility inoculum broth. The use of other broths could result in error.
8. As with any *in vitro* susceptibility testing method, the results of testing should be correlated with the patient's clinical response to prescribed therapy.
9. Correlation of the MIC for caspofungin to the treatment outcome following caspofungin use has not been fully established⁹.
10. Only instruments supported by the Sensititre system, i.e. a simple mirror viewer, Sensititre Vizion, must be used to report results with Sensititre products. Any other system used will not be supported.
11. Itraconazole can occasionally come out of solution at concentrations ≥ 4 µg/ml. This can result in the affected well exhibiting growth and turning pink.

Antifungal limitations

Antifungal Agent(s)	Organism	Limitation
Caspofungin	<i>Candida</i> spp. excluding <i>Candida glabrata</i>	The ability of the Sensititre plate containing caspofungin to determine resistant strains has not currently been established due to testing an insufficient number of resistant isolates.
Fluconazole	<i>Candida glabrata</i>	The ability of the Sensititre plate containing fluconazole to determine resistant strains has not currently been established due to testing an insufficient number of resistant isolates.
Caspofungin	<i>Candida tropicalis</i> and <i>Candida albicans</i>	MIC values with the Sensititre YeastOne Susceptibility System with caspofungin in the dilution range of 0.015-16 µg/mL tended to be in exact agreement or at least one doubling dilution higher for <i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> , and <i>C. glabrata</i> compared to the CLSI broth microdilution reference method.
Anidulafungin Fluconazole Voriconazole	<i>Candida tropicalis</i>	Due to poor performance of the Sensititre YeastOne Susceptibility System with anidulafungin, fluconazole and voriconazole in the comparator study, <i>C. tropicalis</i> isolates should be tested with an alternative method.
Caspofungin	<i>Candida glabrata</i>	Due to categorical agreement below 90% with the Sensititre YeastOne Susceptibility System when compared to the CLSI antifungal broth microdilution method caused by the occurrence of categorical errors and to avoid potential false susceptible results, perform an alternative method of testing prior to reporting results for caspofungin and <i>C. glabrata</i> when the MIC is ≤ 0.12µg/ml.
Itraconazole	<i>Candida lusitanae</i>	Due to the low performance (EA <90%) of itraconazole with <i>C. lusitanae</i> , isolates of <i>C. lusitanae</i> should be tested with an alternative method.

Serious Incidents

Any serious incident that has occurred in relation to the device shall be reported to the manufacturer and the relevant regulatory authority in which the user and/or the patient is established.

Handling and preparation of the specimen

Specimens should be collected, transported, stored and plated onto primary isolation medium using standard procedures¹.

Inoculation Procedure

Allow all broths to come to room temperature before use. Plates should be inoculated within 5 hours of removal from the pouch. A final organism density of approximately $1.5 - 8 \times 10^3$ CFU/ml is recommended. Sensititre System approved broths are performance tested for use with the Sensititre System. The Sensitre YeastOne System is currently only suitable for MIC determinations using CLSI reference methods and standards.

Steps 1 and 2 should be completed within 15 minutes.

1. Pick several well isolated colonies of >1mm diameter from a pure 24-hour culture (Sabouraud Dextrose Agar) of the yeast isolate and emulsify into demineralised water. Mix well ensuring the suspension is uniform, vortex if required. If clumping occurs, allow the suspension to settle before adjusting the density. Adjust to a 0.5 McFarland standard visually or with a Sensititre Nephelometer.
2. Transfer 20 µl of the suspension into 11 ml of Sensititre YeastOne Broth to give a final inoculum of $1.5 - 8 \times 10^3$ CFU/ml.
3. Transfer 100µl of the final suspension to the Sensititre YeastOne Plate within 15 minutes of completing step 2 using either:
 - a. **Sensititre AIM-** Replace the tube cap with a single-use Sensititre dosing head and inoculate the plate according to the Sensititre AIM user manual. Remove the test tube dosing head combination from the Sensititre AIM System within 30 seconds of dosing a plate and store inverted in a rack or discard.
 - b. **Manual pipette –** Pour the broth into a sterile seed trough and inoculate the plate using an appropriate pipette.
4. A check of the colony count should be done by removing 10µl from the positive control well and plating onto Sabouraud Dextrose Agar (SDA). A correct inoculum will produce 15-80 colonies.
5. Cover all wells with the adhesive seal. Avoid creases when applying the adhesive seal.

Incubation

After inoculation, incubate plates at 35 °C in a non-CO₂ incubator for 24 to 25 hours. Incubation temperatures over 35°C may affect performance.

Interpretation of results and calculation of analytical result

Plates may be read visually under normal laboratory lighting, using a manual mirror viewer or by using the Sensititre Vizion System (refer to the Sensititre Vizion System user manual for additional information).

Yeast growth in the antifungal solutions will be evident as a change in the colorimetric growth indicator from blue (negative) to pink (positive). Some yeast species may not change the indicator completely to pink but display an intermediate purple colour. Some organisms may exhibit purple colours with fluconazole, itraconazole, ketoconazole, posaconazole and voriconazole. A colour change to a bleached pink or purple is associated with good growth and should be read as positive.

To interpret results:

1. Examine the positive growth well after incubation.
2. If the positive growth well is pink, the endpoints for the antifungals can be determined. If the well is blue or faint purple, re-incubate for an additional 24 hours and re-examine.

Do not read turbidity in the Sensititre YeastOne plate, read only colour change.

3. The MIC is the lowest concentration of an antifungal agent that substantially inhibits growth of the organism as detected by a colour change from pink to blue.

Interpretation of Results

Table 4. Examples of typical test results and how to interpret them.

	Well Concentration µg/ml						P = PINK: Positive growth indication B = BLUE: Negative growth indication
	1	2	4	8	16	32	
A.	P	P	P	B	B	B	Typical growth pattern; MIC endpoint is 8 µg/ml.
B.	P	P	P	P	P	P	Growth in all wells; MIC endpoint is >32 µg/ml.
C.	B	B	B	B	B	B	No growth in any well; MIC endpoint is ≤1 µg/ml.
D.	P	P	P	B	P	P	"Skipped Well". MIC endpoint is >32 µg/ml. Disregard "skip" when wells on either side have growth. If more than one "skip" should occur in a column, the test results are invalidated*
E.	P	P	B	B	P	P	Double "Skipped Well". The test should be repeated *

*With careful technique, these occurrences are not common.

If MICs for *Candida* spp. are measured using a scale that yields results falling between categories, the next higher category is implied. Thus, an isolate with a fluconazole MIC of 12.5 µg/mL would be placed in the S-DD category (19).

Reading Notes

Amphotericin B.

For amphotericin B at 24 hours, the endpoints are typically well defined, and the MIC is read as the lowest drug concentration that prevents any discernible colour change. Trailing endpoints with Amphotericin B are not usually encountered.

The first well showing a distinct colour change as compared to the positive growth well is the MIC.



Flucytosine and Azole Antifungals

Candida albicans, *C. glabrata* and *C. tropicalis* with flucytosine and azoles, such as fluconazole, itraconazole, ketoconazole, voriconazole and posaconazole may give endpoints that are typically less sharp because of trailing growth, and may be a significant source of variability. Trailing occurs when a slight colour change persists and it is often identical for all drug concentrations above the MIC. The MIC should be read as the first well showing a less intense colour change (indicating a 50% decrease in growth) compared to the positive growth control well.

Reference strains of defined susceptibility may also help to train personnel. Isolates of *Candida krusei* are assumed to be intrinsically resistant to fluconazole and their MICs should not be interpreted¹. A comment should accompany the test result reported.

Trailing endpoint: This occurs when a slight colour change persists and is often identical in several concentrations. The MIC should be read as the first well showing a less intense colour change compared to the positive growth control well (well after a complete pink colour change).



Echinocandins

MIC end points should be determined after 24 hours of incubation at 35°C. The MIC should be read as the first well showing a less intense colour change as compared to the positive growth control well.



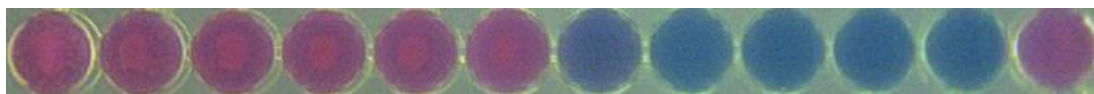
Itraconazole

Itraconazole can occasionally precipitate at concentrations ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ (well highlighted with the black square). This can result in the affected well exhibiting growth and turning pink.



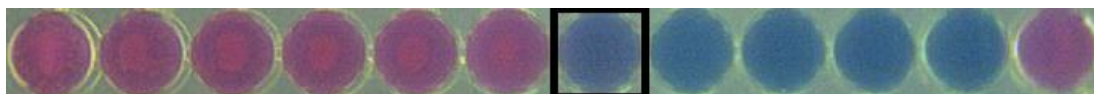
Occasionally unexpected growth in the higher concentrations of Itraconazole on the Sensititre YeastOne plates may be observed which results in pinking of these wells.

This paradoxical effect, known as the Eagle phenomenon¹⁸, occurs when an increase in the antimicrobial concentration results in an increase in the number of micro-organisms that survive. This may be due a self-antagonising effect with the associated binding receptor (e.g. penicillin binding proteins in the case of a penicillin).



Resolution

The growth in the high concentration should be ignored unless you have growth in all of the other concentrations of Itraconazole. In the example below the well highlighted with the black square is where the MIC result should be recorded.



If you have any other questions or concerns, please contact the technical support department on Phone: +44 (0) 1256 694287 | Fax: +44 (0) 1256 463388 or below for a list of contact email addresses.

Contamination & Skips

Note that a pink (growth) well between blue (no growth) wells may be indicative of contamination. Sub-culture well contents to ascertain the cause.

A blue well in a series of pink growth wells indicates a “skip” and should be ignored. The MIC should be read above any skip wells. If there is more than one skipped well, the antifungal should not be reported.

Quality Control Procedures

Frequency of quality control testing should be conducted according to local guidelines¹.

Inoculum should be cultured onto a suitable medium to check for purity. Test results are invalid if a mixed culture is detected.

All Sensititre plates include positive control wells. Tests are invalid unless there is distinct growth in the positive control well.

Control Materials/Strains

The following cultures from the American Type Culture Collection (ATCC™) are recommended for user quality control:

- *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) - ATCC 6258
- *Candida parapsilosis* - ATCC 22019

Clinical results should **not** be reported if QC results are not in the expected range.

The inoculation, reading and interpretation of Sensititre YeastOne susceptibility plates when testing for user quality control should be performed as described in the preceding section.

Table 5. Recommended 24 and 48 hour MIC limits for two quality control strains as per Broth Microdilution CLSI M27². Ranges that are different from or additional to published quality control ranges are underlined.

Antifungal Agent	<i>Issatchenkia orientalis</i> ATCC6258™		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019™	
	24 hours	48 hours	24 hours	48 hours
5-Flucytosine	4-16	8-32	<u>0.12-0.5*</u>	0.12-0.5
Amphotericin B	0.5-2	1-4	0.25-2	0.5-4
Anidulafungin	0.03-0.12	-	0.25-2	-
Caspofungin	0.12-1	0.25-1	0.25-1	0.5-4
Fluconazole	8-64	16-128	0.5-4	2-8
Itraconazole	0.12-1	0.25-1	0.06-0.5	0.06-0.5
Micafungin	0.06-0.5*	0.12 – 0.5	0.5-2	0.5-4
Posaconazole	0.06-0.5	0.12-1	0.03-0.25	0.06-0.25
Voriconazole	0.06-0.5	0.12-1	0.015-0.12	0.03-0.25
Isavuconazole	0.06-0.5	0.12-1.0*	0.015-0.06	0.03-0.12*

* Sensititre range (an internally generated QC range generated at the point of product development using CLSI M27 methodology)

Expected QC values are provided in CLSI M27M44S¹⁹.

Please refer to CLSI¹ for more information concerning interpretation of results.

Specific Performance Characteristics

Panels read manually are designed to give comparable performance to CLSI reference microbroth procedure. Comparable performance is defined as > 90% essential and categorical agreement to within two doubling dilutions of the reference MIC¹.

Precision of Measurement:

Essential agreement when testing QC organisms on Sensititre plates can be found in table 6. Essential agreement is reported when results are within 2 wells (serial dilution) of the model MIC or frozen reference result.

Table 6: *Essential agreement of QC organisms in Sensititre plates*

Antimicrobial	Number of tests	Results showing Essential Agreement
Amphotericin B	126	126 (100%)
Anidulafungin	154	154 (100%)
Caspofungin	32	32 (100%)
Fluconazole	123	123 (100%)
5-Flucytosine	155	155 (100%)
Itraconazole	135	135 (100%)
Micafungin	22	22 (100%)
Posaconazole	32	32 (100%)
Voriconazole	40	40 (100%)
Isavuconazole	144	144(100%)

Repeatability & Reproducibility:

Repeat daily testing conducted over three separate time periods is summarised in table 7. Repeatability and reproducibility of Sensititre plates is ≥95% when comparing to the CLSI M27M44S QC ranges or in-house Sensititre QC ranges.

Table 7: Manual data from Sensititre plates over three separate time periods

Antimicrobial	Number of repeats	Results falling within the CLSI M27M44S or in-house Sensititre QC ranges.
Amphotericin B	67	67 (100%)
Anidulafungin	35	35 (100%)
Caspofungin	112	112 (100%)
Fluconazole	53	53 (100%)
5-Flucytosine	35	35 (100%)
Itraconazole	35	35 (100%)
Micafungin	30	30 (100%)
Posaconazole	96	96 (100%)
Voriconazole	35	35 (100%)
Isavuconazole	144	144 (100%)

Analytical sensitivity

Manual susceptibility tests performed with QC organisms on Sensititre plates show ≥95% agreement with CLSI M27M44S QC ranges or in-house Sensititre ranges.

Table 8: Results from manual susceptibility testing performed on QC organisms.

Antimicrobial	Number of Tests	Results falling within the CLSI M27M44S or in-house Sensititre QC ranges.
Amphotericin B	126	126 (100%)
Anidulafungin	154	154 (100%)
Caspofungin	112	112 (100%)
Fluconazole	123	123 (100%)
5-Flucytosine	155	155 (100%)
Itraconazole	135	135 (100%)
Micafungin	100	100 (100%)
Posaconazole	112	112 (100%)
Voriconazole	115	115 (100%)
Isavuconazole	144	144 (100%)

Analytical Specificity

Analytical specificity is not applicable for this device as a pure culture is used and there is no cross reactivity and/or endogenous/exogenous interference sources.

Limit of Detection

The limit of detection for the plate is 1 log dilution in µg/ml (e.g. 0.03 – 0.06). Anything in between these concentrations would not be detected.

Table 9: Clinical performance characteristics for the Sensititre plates containing the following antifungals assessed using the CLSI reference method and breakpoints.

Antimicrobial Agent	Number of Isolates Tested	Category Agreement CLSI	Category Agreement (%) CLSI	VME %	ME %	mE%
Amphotericin B	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*
Anidulafungin ^a	449	424	99.3%	0.0	0.0	3.0
Caspofungin	573	572	99.8%	0.0	1.0	0.0
Fluconazole ^a	1019	667	92.6%	1.89	0.92	3.53
5-Flucytosine	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*
Itraconazole	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*
Micafungin	315	314	99.7	0.0	0.0	0.3
Posaconazole	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*
Voriconazole ^a	298	204	94.7%	5.0 ^b	0.0	4.7
Isavuconazole	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*	N/A*

*CLSI M60 (now M27M44S) 2nd edition breakpoints (BP) are no longer available.

a – Due to the low performance of fluconazole, voriconazole and anidulafungin with *C. tropicalis*, isolates of *C. tropicalis* should be tested with an alternate method.

b – There was one very major error for *C. albicans* which was considered to be related to incorrect interpretation of the reference method because of trailing endpoints and was therefore considered a random error.

c- The performance characteristics of the stated antifungals was only assessed against CLSI regulatory criteria. The data available was insufficient or incompatible to determine compliance with the EUCAST method.

Another source of clinical data was also collected from 2015-2021 with the performance characteristics described in table 10. below. This was initially conducted to assess the antifungals on Sensititre plates against EUCAST methodology, however changes to EUCAST guidelines and methodologies regarding tissue-treated plates resulted in the data being incompatible for this purpose. The data obtained were also assessed using the CLSI methodology and reference method. This assessment is presented below.

Table 10. Clinical performance characteristics for the Sensititre plates containing the following antifungals obtained from a 2015-2021 assessment using the CLSI reference method and breakpoints.

Antimicrobial Agent	Number of Isolates Tested	Category Agreement	Category Agreement (%)	Essential Agreement	Essential Agreement (%)
Anidulafungin ^a	1150	940	95.6	1072	93.2
Caspofungin	499	401	93.9	493	98.8
Fluconazole ^a	1150	727	91.9	1116	97.0
5-Flucytosine	498	N/A*	N/A*	493	99.0
Itraconazole	1148	N/A*	N/A*	1082	94.3
Micafungin	651	545	98.0	646	99.2
Posaconazole	499	N/A*	N/A*	481	96.4
Voriconazole ^a	1151	674	89.2 ^b	1112	96.6
Isavuconazole	499	N/A*	N/A*	484	97.0

*CLSI M60 (now M27M44S) 2nd edition breakpoints (BP) are no longer available.

a – Due to the low performance of fluconazole, voriconazole and anidulafungin with *C. tropicalis*, isolates of *C. tropicalis* should be tested with an alternate method.

b – The category agreement for voriconazole falls just under the >90% CLSI criterion due to *C. tropicalis* isolates performing poorly (74.3%), reducing the overall CA for this antifungal. As *C. tropicalis* isolates have a limitation for testing with voriconazole this CA can be justified.

Manufacturer Contact Information

The latest information can be obtained from www.trekds.com/techinfo or by contacting Thermo Fisher Scientific Microbiology Technical Services.



TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19,
Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex RH19 1XZ,
United Kingdom
Tel: +44 13423 18777



The ATCC Licensed Derivative® Emblem, the ATCC Licensed Derivative® word mark, and the ATCC catalog marks are trademarks of ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. is licensed to use these trademarks and to sell products derived from ATCC® cultures.

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. All rights reserved. ATCC is a trademark of ATCC. All other trademarks are the property of Thermo Fisher Scientific Inc. and its subsidiaries.

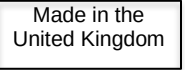


2797

Technical Support email addresses

Austria	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgium	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Czech Republic	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Denmark	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
France	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finland	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Germany	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italy	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Netherlands	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norway	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Spain	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Sweden	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
UK Technical Support	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

Glossary of symbols

Symbol/Label	Meaning
	Manufacturer
	<i>In Vitro</i> Diagnostic Medical Device
	Temperature limitation (storage temp.)
	Lot / Batch Number
	Catalogue Number
	Do not re-use
	Consult Instructions for Use
	Contains sufficient for 10 tests
	Expiry Date
	Period after opening
	USA: Caution: Federal law restricts this device to sale by or on order of a Physician
	Do not use if package is damaged. Consult instructions for use.
	Keep away from sunlight
	Authorized Representative in the European Community
	Importer - To indicate the entity importing the medical device into the locale. Applicable to the European Union
	Made in the United Kingdom

Bibliography

- (1) CLSI M27. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (2017 or latest edition). CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.
- (2) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric Antifungal Plate with the NCCLS, M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. **37**: 591-595.
- (3) Espinel-Ingroff A *et al.* (2002). Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel for testing voriconazole against Isolates of *Candida* spp., a comparison with the NCCLS M27-A microdilution reference method. *Clinical Microbiology and Infection*. **8**: Suppl 1. Abstract 0125.
- (4) Davey K G *et al.* (1998). Comparison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for in-vitro susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **42**: 439-444.
- (5) Linares M *et al.* (2005). Susceptibility of filamentous fungi to voriconazole tested by two microdilution methods. *Journal of Clinical Microbiology*. **43**: 250-253.
- (6) Kartsonis N *et al.* (2005). Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 3616-3623.
- (7) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of five antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. **50** :113-117.
- (8) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posiconazole and ravuconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 4577-4580.
- (9) Espinel-Ingroff A *et al.* (2004). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the NCCLS, M27-A2 reference method for testing new antifungal agents against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 718- 721.
- (10) Linares M *et al.* (2004). Comparison of two microdilution methods for testing susceptibility of *Candida* spp. to voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 899-902.
- (11) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other Yeasts and Yeast-Like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology* **37**: 591-595.
- (12) Barry A L *et al.* (2000). Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **38**: 3457-3459.
- (13) Canton E *et al.* (2005). Sensititre YeastOne® Caspofungin susceptibility testing of *Candida* clinical isolates: Correlation with results of NCCLS, M27-A2 multicenter study . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 1604 - 1607.
- (14) Holliday N M *et al.* (2007) A reproducibility study with two echinocandins using the Sensititre YeastOne® susceptibility plate. *American Microbiology Abstract* **C-191**.
- (15) Torres-Nabona M *et al.* (2007) *In Vitro* activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of Zygomycetes: Comparison of NCCLS, M38-A, Sensititre_YeastOne® and the Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **51**: 1126 -1129.

- (16) Espinel-Infgróff A (2006). Comparison of three commercial assays and a modified disk diffusion assay with two broth microdilution reference assays for testing Zygomycetes, *Aspergillus* spp, *Candida* spp, and *Cryptococcus neoformans* with posaconazole and Amphotericin B. *Journal of Clinical Microbiology* **44**: 3616-3622
- (17) Alexander B D *et al.* (2007). Comparative evaluation of Etest and Sensititre YeastOne® panels against the Clinical Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **45**: 698-706.
- (18) Eagle H. (1948). A paradoxical zone phenomenon in the bactericidal action of penicillin *in vitro*. *Science*, 1948; 107: 44-45
- (19) CLSI M27M44S. Performance Standards For Antifungal Susceptibility Testing Of Yeasts – 3rd Edition. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.



Instrucciones de uso

***Placas de sensibilidad Sensititre™
YeastOne™YO10 e ITAMYUCC de Thermo Scientific***

<i>Sensititre™ YeastOne™YO10 e ITAMYUCC</i>	
Fecha de revisión:	<i>Agosto de 2024</i>

PLACAS DE SENSIBILIDAD SENSITITRE YEASTONE - YO10 E ITAMYUCC DE THERMO SCIENTIFIC

Para uso diagnóstico *in vitro*

Las placas Sensititre son placas de microtitulación de 96 pocillos, disponibles en formato estándar y personalizado. Hay disponibles múltiples antimicrobianos/antifúngicos en diferentes rangos de dilución (en una amplia variedad de formatos de placa). Las placas Sensititre YeastOne se utilizan para determinar la CIM (concentración inhibitoria mínima).

Tras la inoculación con una suspensión normalizada de organismos, se cubre la placa con un sello adhesivo y se incuba a 35 °C durante 24 horas. Las CIM para los organismos de prueba se leen visualmente con respecto a un cambio colorimétrico para determinar la concentración antifúngica más baja que inhibe el crecimiento del aislado.

Este documento de instrucciones de uso (IFU) hace referencia a dos placas de la gama Sensititre YeastOne, YO10 e ITAMYUCC, a las que nos referiremos como «la placa». Excepto si se indica de forma específica, toda la información es aplicable a ambas placas.

Uso previsto

YO10 e ITAMYUCC son productos sanitarios para diagnóstico *in vitro* diseñados para su uso con muestras cultivadas de pacientes con sospecha de infección fúngica (por hongos).

La placa es una prueba semicuantitativa de sensibilidad de aislados clínicos de *Candida* spp. Se utiliza en un flujo de trabajo de diagnóstico para ayudar a los médicos a determinar las posibles opciones de tratamiento para los pacientes con sospecha de infección microbiana; el dispositivo no está automatizado y requiere un cultivo puro en agar. Este dispositivo es exclusivamente para uso profesional y no se trata de una prueba diagnóstica complementaria.

Principios del método

La muestra clínica, una vez aislada y purificada a partir de la muestra del paciente, se inocular a una densidad celular conocida en un medio de proliferación y se incuba durante 24 horas en presencia de un intervalo adecuado de concentraciones de antifúngicos. La concentración más baja del intervalo de dilución logarítmica que no muestra cambio de color se considera la CIM. A continuación, esta CIM puede vincularse a un tratamiento terapéutico positivo, mediante el uso de concentraciones de punto de corte aprobadas por la normativa, en base a la identificación del organismo y la localización de la infección en el cuerpo. A continuación, el usuario previsto puede utilizar esta información para decidir el mejor curso de acción en función de esta y otras informaciones específicas del paciente.

Materiales suministrados

- 10 placas Sensititre
- 10 sellos adhesivos

Disposición de las placas

Consulte las figuras 1 y 2 para conocer la posición antimicrobiana y la concentración (µg/ml). Las abreviaturas de los fármacos figuran en la tabla 1.

Figura 1: Presentación y concentraciones de fármacos en Sensititre YO10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
D	FC 0,06	FC 0,12	FC 0,25	FC 0,5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Figura 2: Presentación y concentraciones de fármacos en Sensititre ITAMYUCC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
D	ISA 0,008	ISA 0,015	ISA 0,03	ISA 0,06	ISA 0,12	ISA 0,25	ISA 0,5	ISA 1	ISA 2	ISA 4	ISA 8	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Tabla 1: Abreviaturas de antimicrobianos utilizados en YO10 e ITAMYUCC

Abreviatura	Antimicrobiano
POS	Positiva
MF	Micafungina
CAS	Caspofungina
FC	5-Flucitosina
PZ	Posaconazol
VOR	Voriconazol
IZ	Itraconazol
FZ	Fluconazol
AND	Anidulafungina
AB	Anfotericina B
ISA	Isavuconazol

Materiales necesarios pero no suministrados

Para conocer la lista de los materiales que no se suministran con el dispositivo pero que son necesarios para el correcto funcionamiento de las placas Sensititre YeastOne YO10 e ITAMYUCC, consulte la tabla 2.

Tabla 2: Descripción de los materiales no suministrados con las placas Sensititre YeastOne

Componente	Código de producto	Descripción
Caldo Sensititre YeastOne	Y3462	11 ml de caldo de cultivo para su uso con placas Sensititre YeastOne.
Agua desmineralizada Sensititre	T3339	5 ml de agua desmineralizada para su uso con placas Sensititre.
Patrón de turbidez de 0,5 de McFarland	E1041	Patrón utilizado para preparar suspensiones bacterianas.
Asa bacteriológica	N/P	Asa de inoculación para uso en cultivo y preparación bacteriana.
Pipeta de 20 µl y puntas desechables	N/P	Instrumento de laboratorio utilizado de forma habitual para transportar y dispensar un volumen medido de líquido dentro de una punta desechable.
Depósito de inóculo estéril	N/P	Depósito estéril para contener suspensiones microbianas.
Pipeta de 100 µl y puntas desechables	N/P	Instrumento de laboratorio utilizado de forma habitual para transportar y dispensar un volumen medido de líquido dentro de una punta desechable.

Instrumentos opcionales no suministrados

A continuación se enumeran los instrumentos que pueden utilizarse con las placas Sensititre YeastOne, aunque no son imprescindibles:

Tabla 3: Instrumentos opcionales que pueden utilizarse con las placas Sensititre YeastOne

Componente	Código de producto	Descripción
Nefelómetro Sensititre	V3011	El nefelómetro Sensititre se utiliza para normalizar la densidad del inóculo de una suspensión fúngica. La luz de un diodo emisor de luz (LED) ultrabrillante se dispersa por las partículas o células microbianas en suspensión y es detectada por un fotodiodo. La cantidad de luz dispersada se compara con un valor de referencia obtenido calibrando el nefelómetro con un patrón de turbidez 0,5 de McFarland.
Thermo Scientific Sensititre AIM™ (sistema automatizado de administración de inóculo)	V3020	El Sensititre AIM es un instrumento controlado por microprocesador que suministra rápidamente inóculo en múltiplos de 50 µl a una placa de microtitulación de 96 pocillos.
Cabezales dosificadores Thermo Scientific Sensititre	E3010	Desechable utilizado con el AIM para administrar el inóculo a cada pocillo de la placa Sensititre.
Visor manual	V4007	Visor manual con espejo para realizar lecturas visuales sencillas de las placas Sensititre.
Sistema de visualización digital de CIM Thermo Scientific Sensititre Vizion™	V2021	Vizion es un instrumento que toma una imagen digital de una placa de sensibilidad Sensititre y la envía al software SWIN™ para que los resultados se muestren en el ordenador con el software SWIN donde puede leerlos el usuario. Vizion se conecta a través del cable provisto a un puerto USB en un ordenador (PC) que ejecuta el software SWIN.

Condiciones de almacenamiento, vida útil y manipulación

Las placas deben almacenarse a temperatura ambiente (15-25 °C), protegidas de la luz solar y del calor directos. Cada placa está envasada en papel de aluminio con desecante de gel de sílice. No usar la placa si (1) el color del desecante no es naranja, (2) ha pasado la fecha de caducidad o (3) la bolsa de aluminio está dañada. Inocular la placa en las 5 horas siguientes a su extracción de la bolsa.

Advertencias y precauciones

Los resultados deben usarse como una ayuda para seleccionar el medicamento escogido para el tratamiento. El sistema debe ser utilizado únicamente por personal con la formación apropiada. Deben emplearse métodos adecuados de manipulación y eliminación de microorganismos. Si el acondicionamiento de aluminio está dañado o el desecante no es de color naranja, no utilice el dispositivo.

Al aplicar el sello adhesivo, evite los pliegues, ya que pueden provocar un resultado erróneo o «saltos de pocillo». Un pocillo azul en una serie de pocillos de proliferación rosas, indica un salto/error y se debe ignorar. La CIM se debe leer por encima de cualquier pocillo omitido. Si hay más de un pocillo omitido, no se debe comunicar el antifúngico.

Siga los procedimientos de incubación que se enumeran a continuación, ya que las temperaturas de incubación superiores a 35 °C pueden afectar al rendimiento.

No existen influencias externas previsible dentro de lo razonable que afecten al correcto funcionamiento de este dispositivo durante su uso habitual. El dispositivo es sensible a la humedad y la temperatura y debe utilizarse de acuerdo con las condiciones adecuadas de almacenamiento y manipulación indicadas en estas instrucciones de uso y en el embalaje.

Existe un cierto riesgo residual de exposición del usuario o del entorno a materiales tóxicos/peligrosos/infecciosos. Estos riesgos pueden mitigarse si el dispositivo es utilizado por profesionales clínicos formados, siguiendo las precauciones establecidas para los peligros microbianos y las advertencias que figuran en la ficha de datos de seguridad (FDS) y en las instrucciones de uso.

El producto no contiene CMR, sustancias que alteren el sistema endocrino ni materiales que puedan provocar una reacción alérgica en condiciones normales de uso.

El dispositivo no incluye ningún material infeccioso. Esterilice los cultivos, recipientes y otros materiales contaminados después de su uso de acuerdo con las normas para la manipulación y eliminación de residuos biológicos peligrosos.

Consulte la FDS disponible en www.trekds.com/techinfo para saber más sobre la manipulación y la eliminación seguras del producto.

Sustancias interferentes y limitaciones

1. Las placas Sensititre YeastOne YO10 e ITAMYUCC se deben utilizar solo con especies de *Candida*. No están indicadas para especies de *Cryptococcus*, *Aspergillus* y otras especies de levaduras de crecimiento rápido. No están destinadas a las levaduras de cultivo exigente o de baja proliferación, como *Histoplasma* o *Blastomyces* ni a hongos filamentosos.
2. Debido al bajo rendimiento de fluconazol, voriconazol y anidulafungina con *C. tropicalis*, los aislados de *C. tropicalis* deben analizarse con un método alternativo. Se evaluó la comparación entre el sistema Sensititre YeastOne a las 24 horas y el método de referencia del CLSI a las 48 horas. Sin embargo, debido a la dificultad para correlacionar los puntos finales de los organismos de proliferación residual (*C. albicans*) a las 48 horas de incubación, se han observado tasas de error elevadas. Las normas oficiales del CLSI, M27-Ed4 2017 recomiendan que las lecturas se realicen a las 24 horas para los aislados clínicos y las cepas de control de calidad.
3. Las pruebas con hongos y agentes antifúngicos son intrínsecamente menos precisas que las pruebas con bacterias.
4. Para obtener orientación adicional, consulte la norma M27 del CLSI Sensibilidades antifúngicas para levaduras.
5. El cambio de color es el indicador del punto final, no la turbidez. Esta característica ayuda a abordar las preocupaciones con la interpretación de ciertas especies de *Candida* debido a la proliferación residual. La

proliferación residual se aprecia con más frecuencia con aislados que no sean de sangre ni de otros líquidos corporales estériles.

6. No lea a las 24 horas si el pocillo de control no ha sufrido un cambio de color completo de azul a rosa.
7. Use solo un caldo de inóculo con sensibilidad a los hongos levaduriformes aprobado para el sistema Sensititre. El uso de otros caldos podría provocar un error.
8. Como ocurre con cualquier método de análisis de sensibilidad *in vitro*, los resultados del análisis se deben correlacionar con la respuesta clínica del paciente al tratamiento prescrito.
9. No se ha establecido plenamente la correlación de la CIM de caspofungina con el resultado del tratamiento después de la utilización de caspofungina⁹.
10. Para comunicar los resultados con los productos Sensititre solo deben utilizarse instrumentos compatibles con el sistema Sensititre, es decir, un visor de espejo simple, Sensititre Vizion. No se admiten otros instrumentos.
11. El itraconazol puede aparecer, en ocasiones, en la solución en concentraciones de ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$. Esto puede dar lugar a que el pocillo afectado muestre proliferación y se vuelva rosa.

Limitaciones antifúngicas

Agente(s) antifúngico(s)	Organismo	Limitación
Caspofungina	<i>Candida</i> spp. excluyendo <i>Candida glabrata</i>	Actualmente no se ha establecido la capacidad de la placa Sensititre que contiene caspofungina para determinar cepas resistentes debido a que se ha analizado un número insuficiente de cepas aisladas resistentes.
Fluconazol	<i>Candida glabrata</i>	Actualmente no se ha establecido la capacidad de la placa Sensititre que contiene fluconazol para determinar cepas resistentes debido a que se ha analizado un número insuficiente de cepas aisladas resistentes.
Caspofungina	<i>Candida tropicalis</i> y <i>Candida albicans</i>	Los valores de CIM con el sistema de sensibilidad Sensititre YeastOne con caspofungina en el intervalo de dilución de 0,015-16 µg/ml tendieron a coincidir exactamente o al menos una dilución al doble más altos para <i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> y <i>C. glabrata</i> en comparación con el método de referencia de microdilución en caldo del CLSI.
Anidulafungina Fluconazol Voriconazol	<i>Candida tropicalis</i>	Debido al bajo rendimiento del sistema de sensibilidad Sensititre YeastOne con anidulafungina, fluconazol y voriconazol en el estudio de comparación, los aislados de <i>C. tropicalis</i> deben analizarse con un método alternativo.
Caspofungina	<i>Candida glabrata</i>	Debido a la concordancia categórica inferior al 90 % con el sistema de sensibilidad Sensititre YeastOne en comparación con el método de microdilución en caldo antifúngico del CLSI causado por la aparición de errores categóricos y para evitar posibles resultados falsos de sensibilidad, realizar un método alternativo de análisis antes de notificar los resultados de caspofungina y <i>C. glabrata</i> cuando la CIM es $\leq 0,12$ µg/ml.
Itraconazol	<i>Candida lusitanae</i>	Debido al bajo rendimiento (EA <90 %) de itraconazol con <i>C. lusitanae</i> , los aislados de <i>C.</i>

		<i>lusitaniae</i> deben analizarse con un método alternativo.
--	--	---

Incidentes graves

Cualquier incidente grave que se haya producido en relación con el producto deberá notificarse al fabricante y a la autoridad reguladora pertinente en la que esté establecido el usuario y/o el paciente.

Manipulación y preparación de la muestra

Las muestras deben obtenerse, transportarse, conservarse y colocarse en una placa con medio de aislamiento primario mediante procedimientos estándar¹.

Procedimiento de inoculación

Deje que todos los caldos de cultivo alcancen la temperatura ambiente antes de utilizarlos. Las placas deben inocularse en las 5 horas siguientes a su extracción de la bolsa. Se recomienda una densidad final del organismo de alrededor de $1,5 - 8 \times 10^3$ ufc/ml. El rendimiento de los caldos de cultivo aprobados para el Sistema Sensititre ha sido comprobado para su uso con el Sistema Sensititre. Actualmente, el sistema Sensititre YeastOne solo es adecuado para determinaciones de CIM utilizando métodos y estándares de referencia del CLSI.

Los pasos 1 y 2 deben completarse en un plazo máximo de 15 minutos.

1. Elija varias colonias bien aisladas de >1 mm de diámetro de un cultivo puro de 24 horas (agar de dextrosa de Sabauroud) del aislado de hongos levaduriformes y emulsione en agua desmineralizada. Mezcle bien para asegurarse de que la suspensión sea uniforme, con una agitadora vortical si fuera necesario. Si se produce aglutinación, deje que la suspensión se asiente antes de ajustar la densidad. Ajustar a un patrón de 0,5 McFarland visualmente o con un nefelómetro Sensititre.
2. Transfiera 20 µl de la suspensión a 11 ml de caldo de cultivo Sensititre YeastOne para obtener un inóculo final de $1,5 - 8 \times 10^3$ ufc/ml.
3. Transfiera 100 µl de la suspensión final a la placa Sensititre YeastOne en un plazo de 15 minutos una vez completado el paso 2, con uno de los siguientes métodos:
 - a. **Sensititre AIM:** vuelva a colocar el tapón del tubo con un cabezal de dosificación de un solo uso Sensititre e inocule la placa de acuerdo con el manual del usuario de Sensititre AIM. Retire la combinación de tubo de análisis y cabezal de dosificación del Sistema Sensititre AIM en los 30 segundos posteriores a la dosificación de una placa y guárdela en posición invertida en una gradilla o deséchela.
 - b. **Pipeta manual:** vierta el caldo de cultivo en un inóculo estéril e inocule la placa con una pipeta adecuada.
4. Se deben retirar 10 µl del pocillo de control positivo y cultivarse en agar de dextrosa de Sabouraud (SDA) para comprobar el número de colonias. Un inóculo correcto producirá entre 15 y 80 colonias.
5. Cubra todos los pocillos con el sello adhesivo. Evite la formación de pliegues al aplicar el sello adhesivo.

Incubación

Tras la inoculación, incube placas a 35 °C en un incubador no de CO₂ durante 24 o 25 horas. Las temperaturas de incubación superiores a 35 °C pueden afectar el rendimiento.

Interpretación de resultados y cálculo del resultado analítico

Las placas pueden leerse de forma visual con una iluminación normal de laboratorio, utilizando un visor de espejo manual o el sistema Sensititre Vizion (consulte el manual del usuario del sistema Sensititre Vizion para obtener información adicional).

La proliferación de levaduras en las soluciones antifúngicas se manifestará por un cambio en el indicador colorimétrico de crecimiento de azul (negativo) a rosa (positivo). Algunas especies de levaduras pueden no cambiar completamente

el indicador a rosa, sino mostrar un color púrpura intermedio. Algunos organismos pueden mostrar colores púrpura con fluconazol, itraconazol, ketoconazol, posaconazol y voriconazol. Un cambio de color a un rosa pálido o púrpura se asocia con un buen crecimiento y debe interpretarse como positivo.

Para interpretar los resultados:

1. Examine el pocillo de proliferación positiva tras la incubación.
2. Si el pocillo de proliferación está rosa, se pueden determinar los puntos finales de los antifúngicos. Si el pocillo es azul o púrpura tenue, vuelva a incubar durante 24 horas más y examine de nuevo.

No lea la turbidez en la placa Sensititre YeastOne, lea solo el cambio de color.

3. La CIM es la concentración mínima de un agente antifúngico que inhibe de forma sustancial la proliferación del organismo, tal y como se detecta mediante un cambio de color de rosa a azul.

Interpretación de los resultados

Tabla 4: Ejemplos de resultados de pruebas típicos y cómo interpretarlos.

Concentración del pocillo µg/ml	1	2	4	8	16	32	R = ROSA: indicación de proliferación positiva A = AZUL: indicación de crecimiento negativo
A.	R	R	R	A	A	A	Patrón de proliferación típico; el punto final de CIM es 8 µg/ml.
B.	R	R	R	R	R	R	Proliferación en ambos pocillos; el punto final de CIM es >32 µg/ml.
C.	A	A	A	A	A	A	Sin proliferación en ninguno de los pocillos; el punto final de CIM es ≤1 µg/ml.
D.	R	R	R	A	R	R	«Pocillo saltado». El punto final de CIM es >32 µg/ml. Desestime el «salto» cuando los pocillos a ambos lados presenten proliferación. En caso de producirse más de un «salto» en una columna, se invalidan los resultados del análisis.*
E.	R	R	A	A	R	R	Doble «pocillo saltado». Se debe repetir el análisis.*

*Si se emplean técnicas minuciosas, estos casos no son frecuentes.

Si las CIM de *Candida* spp. se miden usando una escala que ofrece resultados que caen entre categorías, se sobreentiende que se trata de la siguiente categoría superior. Por tanto, un aislado con una CIM de fluconazol de 12,5 µg/ml se incluiría en la categoría S-DD (19).

Notas de lectura

Anfotericina B.

Para la anfotericina B a las 24 horas, por lo general, los puntos finales quedan bien definidos y la CIM se lee como la concentración farmacológica mínima que impide cualquier cambio de color discernible. Con la anfotericina B no suelen encontrarse puntos finales de proliferación residual (trailing).

La CIM se corresponde con el primer pocillo que muestra un cambio de color evidente en comparación con el pocillo de proliferación positiva.



Antifúngicos de flucitosina y azol

Candida albicans, *C. glabrata* y *C. tropicalis* con flucitosina y azoles, tales como fluconazol, itraconazol, ketoconazol, voriconazol y posaconazol pueden dar puntos finales habitualmente menos precisos a causa de la proliferación

residual (trailing) y pueden ser una fuente importante de variabilidad. La proliferación residual se produce cuando persiste un ligero cambio de color y con frecuencia es idéntico para todas las concentraciones de fármaco por encima de la CIM. La CIM debe leerse como el primer pocillo que muestra un cambio de color menos intenso (lo que indica una disminución del 50 % de la proliferación) en comparación con el pocillo de control de proliferación positiva.

Las cepas de referencia de sensibilidad definida también pueden ayudar en la formación del personal. Se asume que los aislados de *Candida krusei* son intrínsecamente resistentes a fluconazol y que sus CIM no deben interpretarse¹. El resultado del análisis debe ir acompañado de un comentario.

Punto final de proliferación residual: se produce cuando persiste un ligero cambio de color que suele ser idéntico en varias concentraciones. La CIM debe leerse como el primer pocillo que muestra un cambio de color menos intenso en comparación con el pocillo de control de proliferación positiva (pocillo después de un cambio de color rosa completo).



Equinocandinas

Los puntos finales de la CIM deben determinarse después de 24 horas de incubación a 35 °C. La CIM debe leerse como el primer pocillo que muestra un cambio de color menos intenso en comparación con el pocillo de control positivo.



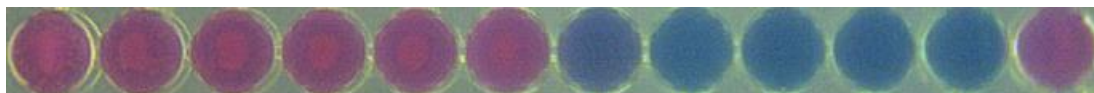
Itraconazol

En ocasiones, el itraconazol puede precipitar en concentraciones ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ (pocillo resaltado con el cuadrado negro). Esto puede dar lugar a que el pocillo afectado muestre proliferación y se vuelva rosa.



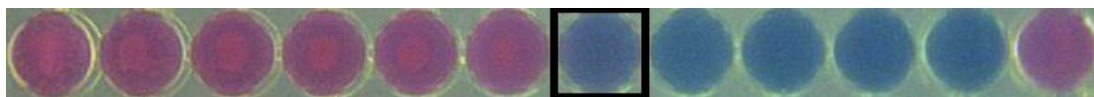
Ocasionalmente, puede observarse una proliferación inesperada en las concentraciones más altas de itraconazol en las placas Sensititre YeastOne, lo que da lugar al color rosado de estos pocillos.

Este efecto paradójico, conocido como fenómeno Eagle¹⁸, se produce cuando un aumento de la concentración de antimicrobianos provoca un aumento del número de microorganismos que sobreviven. Esto puede deberse a un efecto de autoantagonismo con el receptor de unión asociado (p. ej., las proteínas de unión a la penicilina en el caso de una penicilina).



Resolución

La proliferación en la concentración alta se debe ignorar a menos que tenga proliferación en todas las demás concentraciones de itraconazol. En el siguiente ejemplo, el pocillo resaltado con el cuadrado negro es el punto donde debe registrarse el resultado de la CIM.



Si tiene cualquier otra pregunta o preocupación, póngase en contacto con el departamento de asistencia técnica llamando al teléfono: +44 (0) 1256 694287 | Fax: +44 (0) 1256 463388 o consulte a continuación para obtener una lista de direcciones de correo electrónico de contacto.

Contaminación y saltos

Obsérvese que un pocillo rosa (proliferación) entre pocillos azules (sin proliferación) puede ser indicativo de contaminación. Realice un subcultivo del contenido del pocillo para determinar la causa.

Un pocillo azul en una serie de pocillos de proliferación rosas indica un «salto» y se debe ignorar. La CIM se debe leer por encima de cualquier pocillo saltado. Si hay más de un pocillo omitido, no se debe comunicar el antifúngico.

Procedimientos de control de calidad

La frecuencia de las pruebas de control de calidad debe seguir las directrices locales¹.

El inóculo debe cultivarse en un medio adecuado para comprobar su pureza. Los resultados de la prueba no serán válidos si se detecta un cultivo mixto.

Todas las placas Sensititre incluyen pocillos de control positivo. Los análisis no son válidos a menos que haya una proliferación clara en todos los pocillos de control positivos.

Materiales/cepas de control

Se recomiendan los siguientes cultivos de la American Type Culture Collection (ATCC[™]) para el control de calidad del usuario:

- *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) - ATCC 6258
- *Candida parapsilosis* - ATCC 22019

Los resultados **no** deberán notificarse si los resultados de CC no están dentro del intervalo oportuno.

La inoculación, la lectura y la interpretación de las placas de sensibilidad Sensititre YeastOne al analizar el control de calidad del usuario deberían realizarse tal y como se describe en la sección anterior.

Tabla 5: Límites CIM recomendados de 24 y 48 horas para dos cepas de control de calidad atendiendo a la microdilución en caldo M27 del CLSI². Los intervalos diferentes o adicionales a los intervalos de control de calidad publicados se muestran subrayados.

Agente antifúngico	<i>Issatchenkia orientalis</i> ATCC6258 [™]		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC® 22019 [™]	
	24 horas	48 horas	24 horas	48 horas
5-Flucitosina	4-16	8-32	<u>0,12-0,5*</u>	0,12-0,5
Anfotericina B	0,5-2	1-4	0,25-2	0,5-4
Anidulafungina	0,03-0,12	-	0,25-2	-
Caspofungina	0,12-1	0,25-1	0,25-1	0,5-4
Fluconazol	8-64	16-128	0,5-4	2-8
Itraconazol	0,12-1	0,25-1	0,06-0,5	0,06-0,5
Micafungina	0,06-0,5*	0,12-0,5	0,5-2	0,5-4
Posaconazol	0,06-0,5	0,12-1	0,03-0,25	0,06-0,25
Voriconazol	0,06-0,5	0,12-1	0,015-0,12	0,03-0,25
Isavuconazol	0,06-0,5	0,12-1,0*	0,015-0,06	0,03-0,12*

* **Intervalo de Sensititre** (un intervalo de control de calidad generado internamente en el punto de desarrollo del producto utilizando la metodología M27 del CLSI)

Los valores de control de calidad esperados se proporcionan en el M27M44S del CLSI¹⁹.

Consulte al CLSI¹ para obtener más información sobre la interpretación de los resultados.

Características de rendimiento específicas

Los paneles que se leen de forma manual están diseñados para ofrecer un rendimiento comparable con el procedimiento de microcaldo de referencia del CLSI. El rendimiento comparable se define como una concordancia esencial y categórica >90 % en una dilución doble de la CIM de referencia¹.

Precisión de medición:

En la tabla 6 se muestra la concordancia esencial cuando se analizan microorganismos de control de calidad en placas Sensititre. La concordancia esencial se notifica cuando los resultados están a 2 pocillos (dilución en serie) del modelo de CIM o del resultado de la referencia congelada.

Tabla 6: *Concordancia esencial de organismos de control de calidad en placas Sensititre*

Agente	Número de pruebas	Los resultados muestran una concordancia esencial
Anfotericina B	126	126 (100 %)
Anidulafungina	154	154 (100 %)
Caspofungina	32	32 (100 %)
Fluconazol	123	123 (100 %)
5-Flucitosina	155	155 (100 %)
Itraconazol	135	135 (100 %)
Micafungina	22	22 (100 %)
Posaconazol	32	32 (100 %)
Voriconazol	40	40 (100 %)
Isavuconazol	144	144 (100 %)

Repetibilidad y reproducibilidad:

Las pruebas diarias repetidas realizadas durante tres períodos de tiempo separados se resumen en la tabla 7. La repetibilidad y reproducibilidad de las placas Sensititre es ≥95 % en comparación con los intervalos de CC del CLSI M27M44S o los intervalos del CC interno de Sensititre.

Tabla 7: Datos manuales de placas Sensititre durante tres períodos de tiempo separados

Agente	Número de repeticiones	Resultados dentro de los intervalos del CLSI M27M44S o del control de calidad interno de Sensititre.
Anfotericina B	67	67 (100 %)
Anidulafungina	35	35 (100 %)
Caspofungina	112	112 (100 %)
Fluconazol	53	53 (100 %)
5-Flucitosina	35	35 (100 %)
Itraconazol	35	35 (100 %)
Micafungina	30	30 (100 %)
Posaconazol	96	96 (100 %)
Voriconazol	35	35 (100 %)
Isavuconazol	144	144 (100 %)

Sensibilidad analítica

Las pruebas de sensibilidad manuales realizadas en organismos de control de calidad en placas Sensititre muestran ≥ 95 % de conformidad con los intervalos de control de calidad M27M44S del CLSI o los intervalos internos de Sensititre.

Tabla 8: Resultados de pruebas de sensibilidad manuales realizadas en organismos de control de calidad.

Agente	Número de pruebas	Resultados dentro de los intervalos del CLSI M27M44S o del control de calidad interno de Sensititre.
Anfotericina B	126	126 (100 %)
Anidulafungina	154	154 (100 %)
Caspofungina	112	112 (100 %)
Fluconazol	123	123 (100 %)
5-Flucitosina	155	155 (100 %)
Itraconazol	135	135 (100 %)
Micafungina	100	100 (100 %)
Posaconazol	112	112 (100 %)
Voriconazol	115	115 (100 %)
Isavuconazol	144	144 (100 %)

Especificidad analítica

La especificidad analítica no es aplicable para este dispositivo, ya que se utiliza un cultivo puro y no hay reactividad cruzada y/o fuentes de interferencia endógenas/exógenas.

Límite de detección

El límite de detección de la placa es de 1 dilución logarítmica en µg/ml (p. ej., 0,03 - 0,06). Lo que se encuentre entre estas concentraciones no se detectará.

Tabla 9: Características de rendimiento clínico de las placas Sensititre que contienen los siguientes antifúngicos evaluados mediante el método de referencia del CLSI y los puntos de corte.

Agente antimicrobiano	Número de aislados analizados	Concordancia de categoría CLSI	Concordancia de categoría (%) CLSI	% VME	% ME	% mE
Anfotericina B	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*
Anidulafungina ^a	449	424	99,3 %	0,0	0,0	3,0
Caspofungina	573	572	99,8 %	0,0	1,0	0,0
Fluconazol ^a	1019	667	92,6 %	1,89	0,92	3,53
5-Flucitosina	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*
Itraconazol	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*
Micafungina	315	314	99,7	0,0	0,0	0,3
Posaconazol	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*
Voriconazol ^a	298	204	94,7 %	5,0 ^b	0,0	4,7
Isavuconazol	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*

*Los puntos de corte (PC) de CLSI M60 (ahora M27M44S) 2.^a edición ya no están disponibles.

a –Debido al bajo rendimiento de fluconazol, voriconazol y anidulafungina con *C. tropicalis*, los aislados de *C. tropicalis* deben analizarse con un método alternativo.

b – Se produjo un error muy importante en el caso de *C. albicans*, que se consideró relacionado con una interpretación incorrecta del método de referencia a causa de los puntos finales de proliferación residual y, por lo tanto, se consideró un error aleatorio.

c- Las características de rendimiento de los antifúngicos indicados solo se evaluaron según los criterios reglamentarios del CLSI. Los datos disponibles eran insuficientes o incompatibles para determinar el cumplimiento del método EUCAST.

También se recopiló otra fuente de datos clínicos entre 2015 y 2021 con las características de rendimiento descritas en la tabla 10 a continuación. Esto se llevó a cabo inicialmente para evaluar los antifúngicos en las placas Sensititre frente a la metodología EUCAST; sin embargo, los cambios en las directrices y metodologías EUCAST con respecto a las placas tratadas con tejido dieron como resultado que los datos fueran incompatibles para este propósito. Los datos obtenidos también se evaluaron

utilizando la metodología y el método de referencia del CLSI. Esta evaluación se presenta a continuación.

Tabla 10: Características de rendimiento clínico de las placas Sensititre que contienen los siguientes antifúngicos, obtenidas a partir de una evaluación entre 2015 y 2021 utilizando el método de referencia y los puntos de corte del CLSI.

Agente antimicrobiano	Número de aislados analizados	Concordancia de categoría	Concordancia de categoría (%)	Concordancia de categoría	Concordancia de categoría (%)
Anidulafungina ^a	1150	940	95,6	1072	93,2
Caspofungina	499	401	93,9	493	98,8
Fluconazol ^a	1150	727	91,9	1116	97,0
5-Flucitosina	498	N/D*	N/D*	493	99,0
Itraconazol	1148	N/D*	N/D*	1082	94,3
Micafungina	651	545	98,0	646	99,2
Posaconazol	499	N/D*	N/D*	481	96,4
Voriconazol ^a	1151	674	89,2 ^b	1112	96,6
Isavuconazol	499	N/D*	N/D*	484	97,0

*Los puntos de corte (PC) de CLSI M60 (ahora M27M44S) 2.^a edición ya no están disponibles.

a –Debido al bajo rendimiento de fluconazol, voriconazol y anidulafungina con *C. tropicalis*, los aislados de *C. tropicalis* deben analizarse con un método alternativo.

b – La concordancia de categoría para el voriconazol se sitúa justo por debajo del criterio CLSI de >90 % debido al bajo rendimiento de los aislados de *C. tropicalis* (74,3 %), lo que reduce la AC general para este antifúngico. Dado que los aislados de *C. tropicalis* presentan una limitación para las pruebas con voriconazol, esta AC puede estar justificada.

Información de contacto del fabricante

Puede descargar la información técnica actualizada en www.trekds.com/techinfo o solicitarla a través del servicio técnico de microbiología de Thermo Fisher Scientific.



TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19,
Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex RH19 1XZ,
Reino Unido
Tel.: +44 13423 18777



El emblema ATCC Licensed Derivative®, la marca ATCC Licensed Derivative® y las marcas de catálogo ATCC son marcas comerciales de ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. dispone de las licencias pertinentes para usar estas marcas comerciales y vender productos derivados de cultivos de ATCC®.

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. Todos los derechos reservados. ATCC es una marca comercial de ATCC. Las demás marcas comerciales son propiedad de Thermo Fisher Scientific Inc. y sus filiales.



Direcciones de correo electrónico del servicio de asistencia técnica

Austria	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Bélgica	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
República Checa	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Dinamarca	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Francia	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finlandia	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Alemania	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italia	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Países Bajos	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Noruega	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
España	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Suecia	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Servicio de asistencia técnica en Reino Unido	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

Glosario de símbolos

Símbolo/etiqueta	Significado
	Fabricante
	Producto sanitario para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Límite de temperatura (temperatura de conservación)
	Lote/Número de lote
	Número de catálogo
	No reutilizar
	Consulte las instrucciones de uso
	Contenido suficiente para 10 pruebas
	Fecha de caducidad
	Período máximo una vez abierto el producto
	EE. UU.: Precaución: la ley federal de Estados Unidos solo autoriza la venta de este equipo a través de un facultativo autorizado o bajo prescripción médica
	No usar si el paquete está dañado. Consulte las instrucciones de uso.
	Mantener alejado de la luz solar
	Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Importador: para indicar la entidad que importa el producto sanitario a la localidad. Aplicable en la Unión Europea

Made in the
United Kingdom

Fabricado en el Reino Unido

Bibliografía

- (1) CLSI M27. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (2017 or latest edition). CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.
- (2) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric Antifungal Plate with the NCCLS, M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. **37**: 591-595.
- (3) Espinel-Ingroff A *et al.* (2002). Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel for testing voriconazole against Isolates of *Candida* spp., a comparison with the NCCLS M27-A microdilution reference method. *Clinical Microbiology and Infection*. **8**: Suppl 1. Abstract 0125.
- (4) Davey K G *et al.* (1998). Comparison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for in-vitro susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **42**: 439-444.
- (5) Linares M *et al.* (2005). Susceptibility of filamentous fungi to voriconazole tested by two microdilution methods. *Journal of Clinical Microbiology*. **43**: 250-253.
- (6) Kartsonis N *et al.* (2005). Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 3616-3623.
- (7) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of five antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. **50** :113-117.
- (8) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posiconazole and ravuconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 4577-4580.
- (9) Espinel-Ingroff A *et al.* (2004). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the NCCLS, M27-A2 reference method for testing new antifungal agents against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 718- 721.
- (10) Linares M *et al.* (2004). Comparison of two microdilution methods for testing susceptibility of *Candida* spp. to voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 899-902.
- (11) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other Yeasts and Yeast-Like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology* **37**: 591-595.
- (12) Barry A L *et al.* (2000). Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **38**: 3457-3459.
- (13) Canton E *et al.* (2005). Sensititre YeastOne® Caspofungin susceptibility testing of *Candida* clinical isolates: Correlation with results of NCCLS, M27-A2 multicenter study. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 1604 - 1607.
- (14) Holliday N M *et al.* (2007) A reproducibility study with two echinocandins using the Sensititre YeastOne® susceptibility plate. *American Microbiology Abstract* **C-191**.

- (15) Torres-Nabona M *et al.* (2007) *In Vitro* activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of Zygomycetes: Comparison of NCCLS, M38-A, Sensititre_YeastOne® and the Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **51**: 1126 -1129.
- (16) Espinel-Infgróff A (2006). Comparison of three commercial assays and a modified disk diffusion assay with two broth microdilution reference assays for testing Zygomycetes, *Aspergillus* spp, *Candida* spp, and *Cryptococcus neoformans* with posaconazole and Amphotericin B. *Journal of Clinical Microbiology* **44**: 3616-3622
- (17) Alexander B D *et al.* (2007). Comparative evaluation of Etest and Sensititre YeastOne® panels against the Clinical Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **45**: 698-706.
- (18) Eagle H. (1948). A paradoxical zone phenomenon in the bactericidal action of penicillin *in vitro*. *Science*, 1948; 107: 44-45
- (19) CLSI M27M44S. Performance Standards For Antifungal Susceptibility Testing Of Yeasts – 3rd Edition. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.



Istruzioni per l'uso

*Piastre per test di suscettibilità Thermo Scientific
Sensititre™ YeastOne™ YO10 e ITAMYUCC*

Sensititre™ YeastOne™ YO10 e ITAMYUCC	
Data di revisione:	<i>Agosto 2024</i>

PIASTRE PER TEST DI SUSCETTIBILITÀ THERMO SCIENTIFIC SENSITITRE YEASTONE – YO10 E ITAMYUCC

Per uso diagnostico *in vitro*

Le piastre Sensititre sono piastre per microtitolazione da 96 pozzetti, disponibili sia in formato standard sia su misura. Sono disponibili numerosi antimicrobici/antimicotici in intervalli di diluizione diversi (su un'ampia varietà di formati piastra). Le piastre Sensititre YeastOne vengono utilizzate per determinare la concentrazione minima inibente (*Minimum Inhibitory Concentration*, [MIC]).

Dopo l'inoculo con una sospensione standardizzata di microrganismi, la piastra viene coperta con una pellicola adesiva e incubata a 35 °C per 24 ore. Le MIC per gli organismi in esame vengono lette visivamente rispetto a un cambiamento colorimetrico al fine di determinare la concentrazione più bassa di antimicotico in grado di inibire la crescita dell'isolato..

Il presente documento di istruzioni per l'uso (*Instructions For Use*, [IFU]) riguarda due piastre del portafoglio di prodotti di Sensititre YeastOne, YO10 e ITAMYUCC, che verranno chiamate "la piastra". Se non diversamente specificato, tutte le informazioni sono applicabili ad entrambe le piastre.

Uso previsto

YO10 e ITAMYUCC sono dispositivi diagnostici *in vitro* destinati all'uso per colture di campioni prelevati da pazienti con sospetta infezione da lievito.

La piastra è un test semiquantitativo per il test di suscettibilità di isolati clinici di *Candida* spp. Utilizzato in un flusso di lavoro diagnostico per aiutare i medici a determinare le potenziali opzioni terapeutiche per i pazienti con sospetta infezione da lieviti, il dispositivo non è automatizzato e richiede una coltura pura su agar. Questo dispositivo è destinato esclusivamente all'uso professionale e non è un test diagnostico di accompagnamento.

Principi del metodo

Il campione clinico, una volta isolato e purificato dal campione del paziente, viene inoculato a una densità cellulare nota in un terreno di coltura e incubato per 24 ore in presenza di un intervallo adeguato di concentrazioni di antifungini. La concentrazione più bassa dell'intervallo di diluizione logaritmica che non mostra il cambiamento di colore è considerata la MIC. Questa MIC può quindi essere collegata a un trattamento terapeutico positivo, utilizzando concentrazioni di breakpoint approvate dalle normative, in base all'identificazione del microrganismo e della sede fisica dell'infezione. L'utente previsto può quindi utilizzare queste informazioni per decidere la migliore linea d'azione in base a questa e ad altre informazioni specifiche del paziente.

Materiali forniti

- 10 piastre Sensititre
- 10 pellicole adesive

Configurazione della piastra

Fare riferimento alle Figure 1 e 2 per il posizionamento e la concentrazione dell'antimicrobico (µg/mL). Per le abbreviazioni dei farmaci fare riferimento alla Tabella 1.

Figura 1: Disposizione e concentrazioni del farmaco in Sensititre YO10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
D	FC 0,06	FC 0,12	FC 0,25	FC 0,5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Figura 2: Disposizione e concentrazioni del farmaco in Sensititre ITAMYUCC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
D	ISA 0,008	ISA 0,015	ISA 0,03	ISA 0,06	ISA 0,12	ISA 0,25	ISA 0,5	ISA 1	ISA 2	ISA 4	ISA 8	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Tabella 1: Abbreviazioni degli antimicrobici utilizzati in YO10 e ITAMYUCC

Abbreviazione	Antimicrobico
POS	Controllo positivo
MF	Micafungina
CAS	Caspofungina
FC	5-Flucitosina
PZ	Posaconazolo
VOR	Voriconazolo
IZ	Itraconazolo
FZ	Fluconazolo
AND	Anidulafungina
AB	Amfotericina B
ISA	Isavuconazolo

Materiali necessari ma non forniti

Per un elenco dei materiali non forniti con il dispositivo ma necessari per il corretto funzionamento delle piastre Sensititre YeastOne YO10 e ITAMYUCC, fare riferimento alla Tabella 2.

Tabella 2: Descrizione dei materiali non forniti con le piastre Sensititre YeastOne

Componente	Codice prodotto	Descrizione
Brodo Sensititre YeastOne Broth	Y3462	11 mL di brodo per lieviti da utilizzare con piastre Sensititre YeastOne
Acqua demineralizzata Sensititre	T3339	5 mL di acqua demineralizzata da utilizzare con piastre Sensititre.
Standard di torbidità McFarland 0,5	E1041	Standard utilizzato per la preparazione di sospensioni batteriche
Ansa batteriologica	N/D	Ansa di inoculazione per colture e preparazioni batteriche
Pipetta da 20 µL e puntali monouso	N/D	Uno strumento di laboratorio comunemente utilizzato per trasportare e dispensare un volume misurato di liquido all'interno di un puntale monouso
Contenitore sterile per l'inoculo	N/D	Serbatoio sterile per contenere le sospensioni microbiche
Pipetta da 100 µL e puntali monouso	N/D	Uno strumento di laboratorio comunemente utilizzato per trasportare e dispensare un volume misurato di liquido all'interno di un puntale monouso

Strumenti opzionali non forniti

Gli strumenti che possono essere utilizzati con le piastre Sensititre YeastOne, ma non sono essenziali, sono elencati di seguito:

Tabella 3: Strumenti opzionali da utilizzare con le piastre Sensititre YeastOne

Componente	Codice prodotto	Descrizione
Nefelometro Sensititre	V3011	Il nefelometro Sensititre viene utilizzato per uniformare la densità dell'inoculo di una sospensione fungina. La luce di un diodo a emissione luminosa (<i>Light Emitting Diode</i> , [LED]) ultraluminoso viene diffusa da particelle o cellule microbiche in sospensione e rilevata da un fotodiodo. La quantità di luce diffusa viene confrontata con un valore di riferimento ottenuto calibrando il nefelometro con uno standard di torbidità McFarland di 0,5.
Sistema di dispensazione automatica dell'inoculo Thermo Scientific Sensititre AIM™	V3020	Sensititre AIM™ è uno strumento controllato da microprocessore progettato per dispensare rapidamente multipli di 50 µL di inoculo in una piastra di microtitolazione da 96 pozzetti.
Teste di dosaggio Sensititre Thermo Scientific	E3010	Monouso utilizzate con il sistema AIM per somministrare l'inoculo in ciascun pozzetto della piastra Sensititre.
Visualizzatore manuale	V4007	Visualizzatore manuale a specchio per eseguire semplici letture visive delle piastre Sensititre
Sistema di visualizzazione digitale della MIC Thermo Scientific Sensititre Vision™	V2021	Il sistema Vision è uno strumento che acquisisce immagini digitali delle piastre di suscettibilità Sensititre e le invia al software SWIN, affinché i risultati siano visualizzati sul PC SWIN e possano essere letti dall'utente. Vision è collegato tramite il cavo in dotazione a una porta USB di un computer (PC) che esegue il software SWIN.

Condizioni di conservazione e manipolazione e durata di conservazione in magazzino

Le piastre devono essere conservate a temperatura ambiente (15-25 °C) al riparo dal calore e dalla luce solare diretta. Ogni piastra è confezionata in un sacchetto in foglio di alluminio con essiccante in gel di silice. Non utilizzare la piastra se (1) il colore dell'essiccante non è arancione, (2) è trascorsa la data di scadenza o (3) il sacchetto in foglio di alluminio è danneggiato. Una volta estratta dal sacchetto, inoculare la piastra entro 5 ore.

Avvertenze e precauzioni

I risultati devono essere utilizzati come ausilio nella scelta del farmaco d'elezione per il trattamento. Il sistema dovrà essere utilizzato unicamente da personale che abbia ricevuto la necessaria formazione. È necessario adottare metodi adeguati di manipolazione e smaltimento degli organismi. Se la busta in alluminio è danneggiata o l'essiccante non è arancione, non utilizzare il dispositivo.

Quando si applica la pellicola adesiva, evitare la formazione di pieghe poiché potrebbero causare risultati errati o "salti di pozzetto". Un pozzetto blu in una serie di pozzetti di crescita rosa indica un risultato saltato/errato e deve essere ignorato. La lettura della MIC dovrà essere effettuata su tutti i pozzetti saltati. Se ne viene saltato più di uno, l'antifungino non deve essere refertato.

Seguire le procedure di incubazione elencate di seguito, poiché temperature di incubazione superiori a 35 °C possono influire sulle prestazioni.

Durante l'uso di routine non vi sono influenze esterne ragionevolmente prevedibili che potrebbero avere un impatto sul corretto funzionamento di questo dispositivo. Il dispositivo è sensibile all'umidità e alla temperatura e deve essere utilizzato in conformità con le condizioni di conservazione e manipolazione adeguate indicate nelle presenti Istruzioni per l'uso e sulla confezione.

Esiste un rischio residuo che l'utilizzatore o l'ambiente sia esposto a materiali tossici/pericolosi/infettivi. Questi rischi vengono mitigati limitando l'uso del dispositivo solo a clinici professionisti addestrati, seguendo le precauzioni stabilite per i rischi microbici e le avvertenze elencate nella scheda dati di sicurezza (*Safety Data Sheet*, [SDS]) e nelle Istruzioni per l'uso.

Il dispositivo non contiene CMR, sostanze che alterano il sistema endocrino o materiali che potrebbero provocare una reazione allergica in condizioni di utilizzo normali.

Il dispositivo non contiene materiale infettivo. Colture, contenitori e altri materiali contaminati devono essere sterilizzati dopo l'uso in conformità alle linee guida per lo smaltimento di rifiuti a rischio biologico.

Per la manipolazione e lo smaltimento sicuri del prodotto, fare riferimento alla scheda di sicurezza disponibile su www.trekds.com/techinfo.

Sostanze interferenti e limitazioni

1. Le piastre Sensititre YeastOne YO10 e ITAMYUCC sono destinate all'uso unicamente con il genere *Candida* spp. Non sono destinate alle specie *Cryptococcus*, *Aspergillus* e altre specie di lieviti a crescita rapida. Non devono essere utilizzate per lieviti esigenti o a crescita lenta, quali le specie *Histoplasma* o *Blastomyces* e funghi filamentosi.
2. A causa delle basse prestazioni di fluconazolo, anidulafungina e voriconazolo con *C. tropicalis*, gli isolati di *C. tropicalis* devono essere testati con un metodo alternativo.
È stato valutato il confronto tra il sistema Sensititre YeastOne a 24 ore e il metodo di riferimento CLSI a 48 ore. Tuttavia, a causa della difficoltà nel correlare gli endpoint dei microrganismi caratterizzati dal fenomeno di inibizione della crescita (trailing) come *C. albicans* dopo 48 ore di incubazione, sono stati osservati tassi di errore elevati. Gli standard ufficiali CLSI, M27-Ed4 2017, raccomandano che le letture vengano eseguite ogni 24 ore per gli isolati clinici e i ceppi di controllo qualità (*Quality Control*, [QC]).
3. I test su funghi e agenti antifungini sono, per loro stessa natura, meno precisi dei test sui batteri.
4. Per maggiori indicazioni sulla suscettibilità agli antifungini, consultare lo standard CLSI M27 per i lieviti.
5. Il cambiamento di colore è indicatore dell'endpoint, non la torbidità. Questa caratteristica aiuta a risolvere i problemi relativi all'interpretazione di alcune specie di *Candida* dovuti al fenomeno di trailing. Il trailing si osserva più comunemente con isolati diversi da quelli ematici e di altri fluidi organici sterili.
6. Non eseguire la lettura a 24 ore, se il pozzetto di controllo non ha subito un completo viraggio del colore da blu a rosa.
7. Utilizzare solo con brodo di inoculo per suscettibilità dei lieviti approvato per il sistema Sensititre. L'uso di altri brodi può causare errori.
8. Come con qualsiasi metodo di test di suscettibilità *in vitro*, i risultati dei test dovrebbero essere correlati alla risposta clinica del paziente alla terapia prescritta.
9. La correlazione tra la MIC della caspofungina e l'esito del trattamento successivo all'uso di caspofungina non è stata completamente stabilita⁹.
10. Per refertare i risultati ottenuti con i prodotti Sensititre devono essere utilizzati solo gli strumenti supportati dal sistema Sensititre, ovvero un semplice visualizzatore a specchio, Sensititre Vizion. L'utilizzo di qualsiasi altro sistema non è supportato.
11. L'itraconazolo può talvolta separarsi dalla soluzione a concentrazioni ≥ 4 µg/mL. In questi casi il pozzetto interessato può mostrare una crescita e assumere un colore rosa.

Limitazioni degli antimicotici

Agente/i antimicotico/i	Organismo	Limitazione
Caspofungina	<i>Candida</i> spp. esclusa <i>Candida glabrata</i>	La capacità della piastra Sensititre contenente caspofungina di determinare i ceppi resistenti non è stata attualmente stabilita a causa del test di un numero insufficiente di isolati resistenti.
Fluconazolo	<i>Candida glabrata</i>	La capacità della piastra Sensititre contenente fluconazolo di determinare i ceppi resistenti non è stata attualmente stabilita a causa del test di un numero insufficiente di isolati resistenti.
Caspofungina	<i>Candida tropicalis</i> e <i>Candida albicans</i>	I valori della MIC con il sistema di suscettibilità Sensititre YeastOne con caspofungina nell'intervallo di diluizione di 0,015-16 µg/mL tendevano a essere in esatto accordo o almeno una diluizione al raddoppio superiore per <i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> e <i>C. glabrata</i> rispetto al metodo di riferimento della microdiluizione in brodo CLSI.
Anidulafungina Fluconazolo Voriconazolo	<i>Candida tropicalis</i>	A causa delle scarse prestazioni del sistema di suscettibilità Sensititre YeastOne con anidulafungina, fluconazolo e voriconazolo nello studio di confronto, gli isolati di <i>C. tropicalis</i> devono essere analizzati con un metodo alternativo.
Caspofungina	<i>Candida glabrata</i>	A causa della concordanza categorica inferiore al 90% con il sistema di suscettibilità Sensititre YeastOne rispetto al metodo di microdiluizione in brodo antimicotico CLSI causata dal verificarsi di errori categorici e per evitare potenziali risultati di falsa suscettibilità, eseguire un metodo alternativo di test prima di refertare i risultati per caspofungina e <i>C. glabrata</i> quando la MIC è ≤0,12 µg/mL.
Itraconazolo	<i>Candida lusitanae</i>	A causa delle basse prestazioni (EA < 90%) di itraconazolo con gli isolati di <i>C. lusitanae</i> , <i>C. lusitanae</i> deve essere testata con un metodo alternativo.

Incidenti gravi

Qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo deve essere segnalato al fabbricante e all'autorità normativa competente del Paese in cui risiede l'utilizzatore e/o il paziente.

Manipolazione e preparazione del campione

I campioni devono essere raccolti, trasportati, conservati e inoculati su piastra su un terreno di isolamento primario utilizzando procedure standard¹.

Procedura di inoculazione

Prima dell'utilizzo è necessario che tutti i brodi abbiano raggiunto la temperatura ambiente. Le piastre devono essere inoculate entro 5 ore dall'estrazione dal sacchetto. Si consiglia una densità finale degli organismi di circa $1,5 - 8 \times 10^3$ CFU/mL. Per i brodi approvati per il sistema Sensititre è stata testata la prestazione per l'uso con il sistema Sensititre. Il sistema Sensititre YeastOne è attualmente adatto solo per le determinazioni della MIC utilizzando i metodi e gli standard di riferimento CLSI.

Le fasi 1 e 2 devono essere completate entro 15 minuti.

1. Scegliere diverse colonie ben isolate di >1 mm di diametro da una coltura pura di 24 ore (Agar Destrosio Sabouraud) dell'isolato di lievito ed emulsionare in acqua demineralizzata. Mescolare bene, accertandosi che la sospensione sia uniforme, se necessario utilizzare il vortex. In caso di agglutinazione, lasciar stabilizzare la sospensione prima di regolare la densità. Regolare rispetto a uno standard McFarland 0,5 visivamente o utilizzando un nefelometro Sensititre.
2. Trasferire 20 μ L della sospensione in 11 mL di brodo Sensititre YeastOne Broth per ottenere un inoculo finale di $1,5 - 8 \times 10^3$ CFU/mL.
3. Trasferire 100 μ L della sospensione finale nella piastra Sensititre YeastOne entro 15 minuti dal completamento della fase 2 tramite:
 - a. **Sensititre AIM** - Sostituire il tappo della provetta con una testa di dosaggio Sensititre monouso e inoculare la piastra secondo il manuale d'uso del Sensititre AIM. Rimuovere il gruppo provetta/testa di dosaggio dal sistema Sensititre AIM entro 30 secondi dal dosaggio di una piastra e posizionarlo in posizione capovolta in una griglia o eliminarlo.
 - b. **Pipetta manuale** – Versare il brodo in un'area di semina sterile e inoculare la piastra utilizzando una pipetta adeguata.
4. Per effettuare un controllo della conta delle colonie, rimuovere 10 μ L dal pozzetto di controllo positivo e inoculare su Agar Destrosio Sabouraud (*Sabouraud Dextrose Agar*, [SDA]). Se l'inoculo è corretto si otterranno 15-80 colonie.
5. Coprire tutti i pozzetti con la pellicola adesiva. Evitare pieghe durante l'applicazione delle pellicole adesive.

Incubazione

Dopo l'inoculazione, incubare le piastre a 35 °C in un incubatore non a CO₂ per 24-25 ore. L'incubazione a temperature superiori a 35 °C può compromettere le prestazioni delle piastre.

Interpretazione dei risultati e calcolo del risultato analitico

Le piastre possono essere lette visivamente in normali condizioni di illuminazione in laboratorio utilizzando un Sensititre Vizion System (per ulteriori informazioni, fare riferimento al manuale d'uso del Sensititre Vizion System).

La crescita dei lieviti nelle soluzioni antifungine sarà evidenziata dal cambiamento nell'indicatore colorimetrico di crescita da blu (negativo) a rosa (positivo). Alcune specie di lievito potrebbero non cambiare completamente l'indicatore in rosa, ma mostrare un colore viola intermedio. Alcuni microrganismi possono presentare colorazioni viola con fluconazolo, itraconazolo, ketoconazolo, posaconazolo e voriconazolo. Un cambiamento di colore in un rosa o viola sbiadito è associato a una buona crescita e deve essere letto come positivo.

Per interpretare i risultati:

1. Esaminare il pozzetto di controllo della crescita positivo dopo l'incubazione.
2. Se il pozzetto del controllo della crescita positivo è rosa, è possibile determinare gli endpoint per gli antifungini. Se il pozzetto è blu o viola chiaro, incubare nuovamente per altre 24 ore e riesaminare.

Non leggere la torbidità nella piastra Sensititre YeastOne, leggere solo il cambiamento di colore.

3. La MIC è la concentrazione più bassa di un agente antifungino in grado di inibire sostanzialmente la crescita del microrganismo, come rilevato dal cambiamento di colore da rosa a blu.

Interpretazione dei risultati

Tabella 4. Esempi di risultati di test tipici e come interpretarli.

Concentrazione del pozzetto in µg/mL							R = ROSA: indicazione di crescita positiva B = BLU: indicazione di crescita negativa
1	2	4	8	16	32		
A.	R	R	R	B	B	B	Schema tipico di crescita; l'endpoint MIC è 8 µg/mL.
B.	R	R	R	R	R	R	Crescita in tutti i pozzetti; l'endpoint MIC è >32 µg/mL.
C.	B	B	B	B	B	B	Nessuna crescita in nessuno dei pozzetti; l'endpoint MIC è ≤1 µg/mL.
D.	R	R	R	B	R	R	"Salto di un pozzetto". L'endpoint MIC è >32 µg/mL. Ignorare il "salto" quando i pozzetti su ambo i lati presentano crescita. Se in una colonna si verifica più di un "salto", i risultati del test non sono validi*
E.	R	R	B	B	R	R	Doppio "salto di pozzetto". Ripetere il test *

*Con tecniche accurate, questi eventi sono rari.

Se le MIC per *Candida* spp. vengono misurate utilizzando una scala che produce risultati intermedi tra categorie, è implicata la categoria immediatamente superiore. Pertanto, un isolato con una MIC del fluconazolo pari a 12,5 µg/mL verrebbe inserito nella categoria S-DD (19).

Note sulla lettura

Amfotericina B.

Per l'amfotericina B a 24 ore, gli endpoint sono generalmente ben definiti e la MIC viene letta come la concentrazione più bassa del farmaco che impedisce qualsiasi cambiamento di colore percepibile. Di solito non si riscontrano endpoint con il fenomeno di trailing per l'amfotericina B.

Il primo pozzetto che mostra un netto cambiamento di colore rispetto al pozzetto di crescita positivo è la MIC.

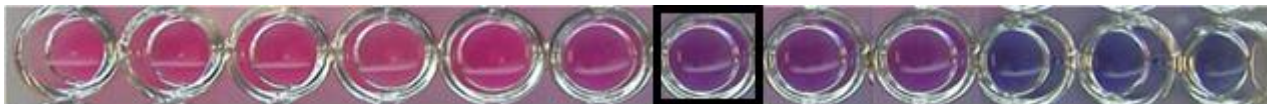


Flucitosina e antifungini azolici

Candida albicans, *C. glabrata* e *C. tropicalis* con flucitosina e azoli, quali fluconazolo, itraconazolo, ketoconazolo, voriconazolo e posaconazolo possono dare endpoint tipicamente meno netti a causa del fenomeno di inibizione della crescita (trailing) e rappresentare un'importante fonte di variabilità. Il trailing si verifica quando persiste un lieve cambiamento di colore ed è spesso identico per tutte le concentrazioni di farmaco superiori alla MIC. La MIC deve essere letta come il primo pozzetto con cambiamento di colore meno intenso (che indica una diminuzione della crescita del 50%) rispetto al pozzetto di controllo di crescita positivo.

Cepi di riferimento di suscettibilità definita possono essere utili per la formazione del personale. Isolati di *Candida krusei* sono ritenuti intrinsecamente resistenti al fluconazolo e le relative MIC non devono essere interpretate¹. Un commento dovrebbe accompagnare il risultato del test refertato.

Endpoint con fenomeno di trailing: si verifica quando persiste un leggero cambiamento di colore che spesso è identico a più concentrazioni. La MIC deve essere letta come il primo pozzetto con un cambiamento di colore meno intenso rispetto al pozzetto di controllo di crescita positivo (pozzetto successivo a un cambio di colore rosa completo).



Echinocandine

Gli endpoint della MIC devono essere determinati dopo 24 ore di incubazione a 35 °C. La MIC deve essere letta come il primo pozzetto con un cambiamento di colore meno intenso rispetto al pozzetto di controllo positivo.



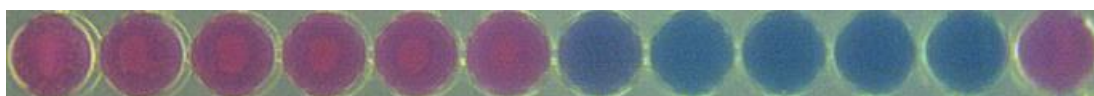
Itraconazolo

Itraconazolo può occasionalmente precipitare a concentrazioni ≥ 4 $\mu\text{g/mL}$ (ben evidenziato con il quadrato nero). In questi casi il pozzetto interessato può mostrare una crescita e assumere un colore rosa.



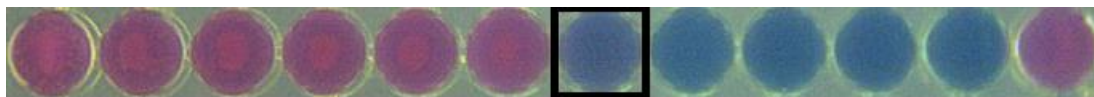
Occasionalmente si può osservare una crescita inaspettata alle concentrazioni più elevate di itraconazolo sui pannelli Sensititre YeastOne che determina la colorazione rosa di questi pozzetti.

Questo effetto contraddittorio, noto come fenomeno Eagle¹⁸, si verifica quando un aumento della concentrazione antimicrobica determina un aumento del numero di microrganismi che sopravvivono. Ciò può essere dovuto a un effetto auto-antagonizzante del recettore legante associato (ad es. proteine leganti la penicillina nel caso di una penicillina).



Risoluzione

La crescita ad alta concentrazione deve essere ignorata a meno che non si abbia una crescita in tutte le altre concentrazioni di itraconazolo. Nell'esempio seguente il pozzetto evidenziato dal quadrato nero corrisponde al risultato MIC da refertare.



In caso di domande o dubbi, rivolgersi al Servizio di Assistenza tecnica al numero telefonico: +44 (0) 1256 694287, Fax: +44 (0) 1256 463388 oppure di seguito è indicato un elenco di indirizzi e-mail di contatto.

Contaminazione e salti

Si noti che un pozzetto rosa (crescita) tra pozzetti blu (crescita zero) può essere indicativo di una contaminazione. Sottoporre il contenuto del pozzetto a subcultura per stabilire la causa.

Un pozzetto blu in una serie di pozzetti di crescita rosa indica un "salto" e dovrebbe essere ignorato. La lettura della MIC dovrà essere effettuata su tutti i pozzetti saltati. Se ne viene saltato più di uno, l'antifungino non deve essere refertato.

Procedure di controllo qualità

La frequenza dei test di controllo qualità deve essere conforme alle linee di guida locali¹.

La coltura dell'inoculo deve essere eseguita su un terreno adatto per verificare la purezza. I risultati del test non sono validi se si rileva la presenza di una coltura mista.

Tutte le piastre Sensititre includono pozzetti di controllo positivo. I test non sono validi se non è presente una crescita ben definita in tutti i pozzetti di controllo positivi.

Materiali/ceppi di controllo

Per il controllo qualità dell'utente, si consigliano le seguenti colture dell'American Type Culture Collection (ATCCTM):

- *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) - ATCC 6258
- *Candida parapsilosis* - ATCC 22019

I risultati clinici **non** devono essere refertati, se i risultati QC non rientrano nell'intervallo atteso.

L'inoculazione, la lettura e l'interpretazione delle piastre di suscettibilità Sensititre YeastOne per il controllo qualità dell'utente devono essere eseguite come descritto nella sezione precedente.

Tabella 5. Limiti MIC consigliati a 24 e 48 ore per due ceppi di controllo qualità secondo le raccomandazioni del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M27 per microdiluizione in brodo². Gli intervalli diversi o aggiuntivi rispetto agli intervalli di controllo qualità pubblicati sono sottolineati.

Agente antifungino	<i>Issatchenkia orientalis</i> ATCC 6258 TM		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019 TM	
	24 ore	48 ore	24 ore	48 ore
5-Flucitosina	4-16	8-32	<u>0,12-0,5*</u>	0,12-0,5
Amfotericina B	0,5-2	1-4	0,25-2	0,5-4
Anidulafungina	0,03-0,12	-	0,25-2	-
Caspofungina	0,12-1	0,25-1	0,25-1	0,5-4
Fluconazolo	8-64	16-128	0,5-4	2-8
Itraconazolo	0,12-1	0,25-1	0,06-0,5	0,06-0,5
Micafungina	0,06-0,5*	0,12-0,5	0,5-2	0,5-4
Posaconazolo	0,06-0,5	0,12-1	0,03-0,25	0,06-0,25
Voriconazolo	0,06-0,5	0,12-1	0,015-0,12	0,03-0,25
Isavuconazolo	0,06-0,5	0,12-1,0*	0,015-0,06	0,03-0,12*

* **Intervallo Sensititre** (un intervallo QC generato internamente al momento dello sviluppo del prodotto utilizzando la metodologia CLSI M27)

I valori QC attesi sono forniti in CLSI M27M44S¹⁹.

Fare riferimento al CLSI¹ per ulteriori informazioni sull'interpretazione dei risultati.

Caratteristiche prestazionali specifiche

I pannelli letti manualmente sono progettati per fornire prestazioni paragonabili alla procedura con microbrodo CLSI di riferimento. Si definisce prestazione comparabile quella con >90% di concordanza essenziale e concordanza categorica entro due diluizioni al raddoppio della MIC di riferimento¹.

Precisione della misurazione:

La concordanza essenziale durante l'analisi dei microrganismi di controllo qualità sulle piastre Sensititre è riportata nella Tabella 6. La concordanza essenziale è riportata quando i risultati sono entro 2 pozzetti (diluizione seriale) della MIC modello o del risultato di riferimento congelato.

Tabella 6: *Concordanza essenziale dei microrganismi di controllo qualità nelle piastre Sensititre*

Agente	Numero di test	Risultati che mostrano una concordanza essenziale
Amfotericina B	126	126 (100%)
Anidulafungina	154	154 (100%)
Caspofungina	32	32 (100%)
Fluconazolo	123	123 (100%)
5-Flucitosina	155	155 (100%)
Itraconazolo	135	135 (100%)
Micafungina	22	22% (100%)
Posaconazolo	32	32 (100%)
Voriconazolo	40	40 (100%)
Isavuconazolo	144	144 (100%)

Ripetibilità e riproducibilità:

La ripetizione dei test giornalieri condotti in tre periodi di tempo separati è riassunta nella Tabella 7. La ripetibilità e la riproducibilità delle piastre Sensititre sono ≥95% rispetto agli intervalli di controllo qualità CLSI M27M44S o agli intervalli di controllo qualità interni Sensititre.

Tabella 7: Dati manuali dalle piastre Sensititre su tre periodi di tempo separati

Agente	Numero di ripetizioni	Risultati che rientrano negli intervalli di controllo qualità CLSI M27M44S o Sensititre interni.
Amfotericina B	67	67 (100%)
Anidulafungina	35	35 (100%)
Caspofungina	112	112 (100%)
Fluconazolo	53	53 (100%)
5-Flucitosina	35	35 (100%)
Itraconazolo	35	35 (100%)
Micafungina	30	30 (100%)
Posaconazolo	96	96 (100%)
Voriconazolo	35	35 (100%)
Isavuconazolo	144	144 (100%)

Sensibilità analitica

I test manuali di suscettibilità eseguiti su microrganismi di controllo qualità su piastre Sensititre indicano una concordanza $\geq 95\%$ con gli intervalli di controllo qualità CLSI M27M44S o gli intervalli Sensititre interni.

Tabella 8: Risultati dei test di suscettibilità manuali eseguiti su organismi di controllo qualità.

Agente	Numero di test	Risultati che rientrano negli intervalli di controllo qualità CLSI M27M44S o Sensititre interni.
Amfotericina B	126	126 (100%)
Anidulafungina	154	154 (100%)
Caspofungina	112	112 (100%)
Fluconazolo	123	123 (100%)
5-Flucitosina	155	155 (100%)
Itraconazolo	135	135 (100%)
Micafungina	100	100 (100%)
Posaconazolo	112	112 (100%)
Voriconazolo	115	115 (100%)
Isavuconazolo	144	144 (100%)

Specificità analitica

La specificità analitica non è applicabile a questo dispositivo, poiché viene utilizzata una coltura pura e non sono presenti reattività crociata e/o fonti di interferenza endogene/esogene.

Limite di rilevabilità

Il limite di rilevabilità per la piastra è 1 diluizione logaritmica in µg/mL (ad es. 0,03 – 0,06). Qualsiasi valore compreso tra queste concentrazioni non verrebbe rilevato.

Tabella 9: Caratteristiche delle prestazioni cliniche per le piastre Sensititre contenenti i seguenti antimicotici valutate utilizzando il metodo di riferimento e i breakpoint CLSI.

Agente antimicrobico	Numero di isolati analizzati	Concordanza categorica CLSI	Concordanza categorica (%) CLSI	VME %	ME %	mE%
Amfotericina B	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*
Anidulafungina ^a	449	424	99,3%	0,0	0,0	3,0
Caspofungina	573	572	99,8%	0,0	1,0	0,0
Fluconazolo ^a	1.019	667	92,6%	1,89	0,92	3,53
5-Flucitosina	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*
Itraconazolo	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*
Micafungina	315	314	99,7	0,0	0,0	0,3
Posaconazolo	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*
Voriconazolo ^a	298	204	94,7%	5,0 ^b	0,0	4,7
Isavuconazolo	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*	N/D*

*I breakpoint (BP) CLSI M60 (ora M27M44S) 2a edizione non sono più disponibili.

a – A causa della bassa prestazione di fluconazolo, voriconazolo e anidulafungina con *C. tropicalis*, gli isolati di *C. tropicalis* devono essere testati con un metodo alternativo.

b – Si è verificato un errore molto grave (*Very Major Error*, [VME]) per *C. albicans* che è stato considerato correlato a un'errata interpretazione del metodo di riferimento a causa di endpoint con fenomeno di trailing ed è stato pertanto considerato un errore casuale.

c- Le caratteristiche prestazionali degli antimicotici indicati sono state valutate solo in base ai criteri regolatori del CLSI. I dati disponibili erano insufficienti o incompatibili per determinare la conformità al metodo EUCAST.

È stata raccolta anche un'altra fonte di dati clinici nel periodo 2015-2021 con le caratteristiche prestazionali descritte nella Tabella 10 di seguito. Questa è stata inizialmente condotta per valutare gli antimicotici sulle piastre Sensititre rispetto alla metodologia EUCAST, tuttavia le modifiche alle linee guida e alle metodologie EUCAST relative alle piastre trattate per tessuto hanno reso i dati incompatibili per questo scopo. I dati ottenuti erano stati valutati anche utilizzando la metodologia e il metodo di riferimento CLSI. Questa valutazione è presentata di seguito.

Tabella 10. Caratteristiche delle prestazioni cliniche per le piastre Sensititre contenenti i seguenti antimicotici ottenute da una valutazione dal 2015 al 2021 utilizzando il metodo di riferimento CLSI e i breakpoint.

Agente antimicrobico	Numero di isolati analizzati	Concordanza categorica	Concordanza categorica (%)	Concordanza essenziale	Concordanza essenziale (%)
Anidulafungina ^a	1.150	940	95,6	1.072	93,2
Caspofungina	499	401	93,9	493	98,8
Fluconazolo ^a	1.150	727	91,9	1.116	97,0
5-Flucitosina	498	N/D*	N/D*	493	99,0
Itraconazolo	1.148	N/D*	N/D*	1.082	94,3
Micafungina	651	545	98,0	646	99,2
Posaconazolo	499	N/D*	N/D*	481	96,4
Voriconazolo ^a	1.151	674	89,2 ^b	1.112	96,6
Isavuconazolo	499	N/D*	N/D*	484	97,0

*I breakpoint (BP) CLSI M60 (ora M27M44S) 2a edizione non sono più disponibili.

a – A causa della bassa prestazione di fluconazolo, voriconazolo e anidulafungina con *C. tropicalis*, gli isolati di *C. tropicalis* devono essere testati con un metodo alternativo.

b – La concordanza categorica (*category agreement*, [CA]) per voriconazolo rientra appena sotto il criterio CLSI >90% a causa delle scarse prestazioni degli isolati di *C. tropicalis* (74,3%), riducendo la CA complessiva per questo antimicotico. Considerato che gli isolati di *C. tropicalis* hanno una limitazione per i test con voriconazolo, questa CA può essere giustificata.

Informazioni di contatto del Produttore

È possibile ottenere le informazioni più aggiornate scaricandole all'indirizzo www.trekds.com/techinfo oppure contattando il Servizio di assistenza tecnica di microbiologia di Thermo Fisher Scientific.



TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19,
Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex RH19 1XZ,
Regno Unito
Tel: +44 (13423) 18777



L'emblema ATCC Licensed Derivative®, il marchio denominativo ATCC Licensed Derivative® e i marchi del catalogo ATCC sono marchi di fabbrica di ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. è autorizzata a utilizzare questi marchi e a vendere prodotti derivati dalle colture di ATCC®.

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. Tutti i diritti riservati. ATCC è un marchio di ATCC. Tutti gli altri marchi sono di proprietà di Thermo Fisher Scientific Inc. e delle sue consociate.

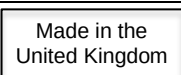


2797

Indirizzi e-mail dei centri di assistenza tecnica

Austria	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgio	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Repubblica Ceca	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Danimarca	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Francia	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finlandia	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Germania	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italia	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Paesi Bassi	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norvegia	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Spagna	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Svezia	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Assistenza tecnica Regno Unito	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

Spiegazione dei simboli

Simbolo/Etichetta	Significato
	Fabbricante
	Dispositivo medico-diagnostico <i>in vitro</i>
	Limite di temperatura (temp. di conservazione)
	Numero di lotto/partita
	Numero di catalogo
	Non riutilizzare
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Contenuto sufficiente per 10 test
	Data di scadenza
	Durata dopo l'apertura
	Stati Uniti – Attenzione: le leggi federali limitano la vendita di questo dispositivo a medici autorizzati o su prescrizione medica
	Non utilizzare se la confezione è danneggiata. Consultare le Istruzioni per l'uso.
	Tenere lontano dalla luce diretta del sole
	Rappresentante autorizzato nella Comunità Europea
	Importatore: indicare l'entità che importa il dispositivo medico nel mercato locale. Applicabile all'Unione europea
	Prodotto nel Regno Unito

Bibliografia

- (1) CLSI M27. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (2017 or latest edition). CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.
- (2) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric Antifungal Plate with the NCCLS, M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. **37**: 591-595.
- (3) Espinel-Ingroff A *et al.* (2002). Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel for testing voriconazole against Isolates of *Candida* spp., a comparison with the NCCLS M27-A microdilution reference method. *Clinical Microbiology and Infection*. **8**: Suppl 1. Abstract 0125.
- (4) Davey K G *et al.* (1998). Comparison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for in-vitro susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **42**: 439-444.
- (5) Linares M *et al.* (2005). Susceptibility of filamentous fungi to voriconazole tested by two microdilution methods. *Journal of Clinical Microbiology*. **43**: 250-253.
- (6) Kartsonis N *et al.* (2005). Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 3616-3623.
- (7) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of five antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. **50**: 113-117.
- (8) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posiconazole and ravuconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 4577-4580.
- (9) Espinel-Ingroff A *et al.* (2004). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the NCCLS, M27-A2 reference method for testing new antifungal agents against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 718- 721.
- (10) Linares M *et al.* (2004). Comparison of two microdilution methods for testing susceptibility of *Candida* spp. to voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 899-902.
- (11) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other Yeasts and Yeast-Like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. **37**: 591-595.
- (12) Barry A L *et al.* (2000). Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology*. **38**: 3457-3459.
- (13) Canton E *et al.* (2005). Sensititre YeastOne® Caspofungin susceptibility testing of *Candida* clinical isolates: Correlation with results of NCCLS, M27-A2 multicenter study . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 1604 -1607.
- (14) Holliday N M *et al.* (2007) A reproducibility study with two echinocandins using the Sensititre YeastOne® susceptibility plate. *American Microbiology Abstract* **C-191**.
- (15) Torres-Nabona M *et al.* (2007) *In Vitro* activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of Zygomycetes: Comparison of NCCLS, M38-A, Sensititre_YeastOne® and the Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **51**: 1126 -1129.
- (16) Espinel-Ingroff A (2006). Comparison of three commercial assays and a modified disk diffusion assay with two broth microdilution reference assays for testing Zygomycetes, *Aspergillus* spp, *Candida* spp, and *Cryptococcus neoformans* with posaconazole and Amphotericin B. *Journal of Clinical Microbiology*. **44**: 3616-3622
- (17) Alexander B D *et al.* (2007). Comparative evaluation of Etest and Sensititre YeastOne® panels against the Clinical Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology*. **45**: 698-706.

- (18) Eagle H. (1948). A paradoxical zone phenomenon in the bactericidal action of penicillin *in vitro*. Science, 1948; 107: 44-45
- (19) CLSI M27M44S. Performance Standards For Antifungal Susceptibility Testing Of Yeasts – 3rd Edition. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.



Gebrauchsanweisung

Thermo Scientific Sensititre™ YeastOne™ YO10 & ITAMYUCC Platten für Empfindlichkeitstests

Sensititre™ YeastOne™ YO10 & ITAMYUCC	
Revisionsdatum:	<i>August 2024</i>

THERMO SCIENTIFIC SENSITITRE YEASTONE PLATTEN FÜR EMPFINDLICHKEITSTESTS – YO10 & ITAMYUCC

Für die *In-vitro*-Diagnostik

Sensititre Platten sind 96-Well-Mikrotiterplatten, die sowohl im Standardformat als auch im kundenspezifischen Format erhältlich sind. Mehrere antimikrobielle Mittel/Antimykotika sind in unterschiedlichen Verdünnungsbereichen (auf einer Vielzahl von Plattenformaten) erhältlich. Sensititre YeastOne Platten werden zur Bestimmung der MHK (minimale Hemmkonzentration) verwendet.

Nach der Beimpfung mit einer standardisierten Organismensuspension wird die Platte mit einer selbstklebenden Abdeckfolie abgedeckt und 24 Stunden lang bei 35 °C inkubiert. Die MHKs für die Testorganismen werden visuell anhand einer kolorimetrischen Veränderung abgelesen, um die niedrigste antimykotische Konzentration zu bestimmen, die das Wachstum des Isolats hemmt.

Diese Gebrauchsanweisung (instruction for use, IFU) beschreibt zwei Platten aus der Sensititre YeastOne Reihe, YO10 und ITAMYUCC, die im Folgenden als „die Platte“ bezeichnet werden. Sofern nicht ausdrücklich angegeben, gelten alle Informationen für beide Platten.

Verwendungszweck

YO10 und ITAMYUCC sind *In-vitro*-Diagnostika zur Verwendung mit Kulturproben von Patienten, bei denen der Verdacht auf eine Infektion mit dem Hefepilz besteht.

Die Platte ist ein semiquantitativer Empfindlichkeitstest klinischer Isolate von *Candida* spp. Das Produkt wird in einem diagnostischen Arbeitsablauf eingesetzt, um Ärzten dabei zu helfen, potenzielle Behandlungsoptionen für Patienten mit Verdacht auf eine Hefeinfektion zu ermitteln. Die Platte ist nicht automatisiert und erfordert eine reine, auf Agar gezüchtete Kultur. Dieses Produkt ist nur für den professionellen Gebrauch bestimmt und stellt kein Begleitdiagnostikum dar.

Methodenprinzip

Sobald die klinische Probe aus der Patientenprobe isoliert und gereinigt wurde, wird sie mit einer bekannten Zelldichte in ein Wachstumsmedium geimpft und 24 Stunden lang in Gegenwart eines geeigneten Bereichs antimykotischer Konzentrationen inkubiert. Als MHK gilt die niedrigste Konzentration im logarithmischen Verdünnungsbereich, die keine Farbänderung zeigt. Diese MHK kann dann im Rahmen einer positiven Therapie eingesetzt werden, wobei behördlich zugelassene Grenzwerte verwendet werden, basierend auf der Identifizierung des Organismus und der infizierten Körperstelle. Der vorgesehene Benutzer kann diese Informationen dann verwenden, um auf der Grundlage dieser und anderer patientenspezifischer Informationen die beste Vorgehensweise zu bestimmen.

Lieferumfang

- 10 x Sensititre Platten
- 10 x selbstklebende Abdeckfolien

Platten-Layout

Informationen zur Positionierung und Konzentration (µg/ml) des antimikrobiellen Wirkstoffs entnehmen Sie bitte den Abbildungen 1 und 2. Die Abkürzungen der Wirkstoffe finden Sie in Tabelle 1.

Abbildung 1: Anordnung und Konzentrationen der Wirkstoffe in Sensititre YO10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	S 0,008	S 0,015	S 0,03	S 0,06	S 0,12	S 0,25	S 0,5	S 1	S 2	S 4	S 8	AB 0,5
D	FC 0,06	FC 0,12	FC 0,25	FC 0,5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Abbildung 2: Anordnung und Konzentrationen der Wirkstoffe in Sensititre ITAMYUCC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	S 0,008	S 0,015	S 0,03	S 0,06	S 0,12	S 0,25	S 0,5	S 1	S 2	S 4	S 8	AB 0,5
D	ISA 0,008	ISA 0,015	ISA 0,03	ISA 0,06	ISA 0,12	ISA 0,25	ISA 0,5	ISA 1	ISA 2	ISA 4	ISA 8	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Tabelle 1: Abkürzungen für antimikrobielle Mittel, die in YO10 und ITAMYUCC verwendet werden

Abkürzung	Antimikrobielles Mittel
POS	Positivkontrolle
MF	Micafungin
S	Caspofungin
FC	5-Flucytosin
PZ	Posaconazol
VOR	Voriconazol
IZ	Itraconazol
FZ	Fluconazol
AND	Anidulafungin
AB	Amphotericin B
ISA	Isavuconazol

Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

Eine Liste der Materialien, die nicht im Lieferumfang des Produkts enthalten sind, aber für den ordnungsgemäßen Betrieb der Sensititre YeastOne YO10 und ITAMYUCC Platten erforderlich sind, finden Sie in Tabelle 2.

Tabelle 2: Beschreibung der Materialien, die nicht im Lieferumfang der Sensititre YeastOne Platten enthalten sind

Komponente	Produktcode	Beschreibung
Sensititre YeastOne Nährlösung	Y3462	11 ml Hefe-Nährlösung zur Verwendung mit Sensititre YeastOne Platten
Sensititre entmineralisiertes Wasser	T3339	5 ml entmineralisiertes Wasser zur Verwendung mit Sensititre Platten.
0,5-McFarland-Trübungsstandard	E1041	Standard zur Vorbereitung von Bakteriensuspensionen
Bakteriologische Impföse	n. z.	Impföse zur Verwendung bei der Bakterienkultur und -vorbereitung
20-µl-Pipette und Einwegspitzen	n. z.	Ein Laborgerät, das häufig verwendet wird, um ein abgemessenes Flüssigkeitsvolumen innerhalb einer Einwegspitze zu transportieren und abzugeben.
Steriler Inokulumbehälter	n. z.	Steriler Behälter zur Aufnahme von mikrobiellen Suspensionen
100-µl-Pipette und Einwegspitzen	n. z.	Ein Laborgerät, das häufig verwendet wird, um ein abgemessenes Flüssigkeitsvolumen innerhalb einer Einwegspitze zu transportieren und abzugeben.

Optionale, nicht im Lieferumfang enthaltene Geräte

Geräte, die mit Sensititre YeastOne Platten verwendet werden können, aber nicht unbedingt erforderlich sind, sind unten aufgeführt:

Tabelle 3: Optionale Geräte, die mit Sensititre YeastOne Platten verwendet werden können

Komponente	Produktcode	Beschreibung
Sensititre Nephelometer	V3011	Das Sensititre Nephelometer wird zur Standardisierung der Inokulumdichte einer Pilzsuspension verwendet. Das Licht einer ultrahellen Leuchtdiode (LED) wird von Partikel oder mikrobiellen Zellen in Suspension gestreut und von einer Fotodiode erfasst. Die Streulichtmenge wird mit einem Referenzwert verglichen, der durch Kalibrierung des Nephelometers mit einem 0,5-McFarland-Trübungsstandard erhalten wird.
Thermo Scientific Sensititre AIM™ (Automatisiertes Abgabesystem für die Inokulation)	V3020	Das Sensititre AIM ist ein mikroprozessorgesteuertes Gerät, das zur Abgabe von Inokulum in einem Vielfachen von 50 µl auf eine 96-Well-Mikrotiterplatte bestimmt ist.
Thermo Scientific Sensititre Dosierköpfe	E3010	Einmalartikel, der mit dem AIM verwendet wird, um Inokulum in jede Vertiefung der Sensititre-Platte zu übertragen..
Manueller Betrachter	V4007	Ein manueller Spiegelbetrachter zum einfachen visuellen Ablesen von Sensititre Platten
Thermo Scientific Sensititre Vizion™ Digitales MHK-Betrachtungssystem	V2021	Bei Vizion handelt es sich um ein Gerät, das ein digitales Bild einer Sensititre Platte für Empfindlichkeitstests aufnimmt und es an die SWIN-Software sendet, sodass die Ergebnisse auf einem SWIN-PC angezeigt und vom Benutzer gelesen werden können. Vizion wird über das mitgelieferte Kabel mit einem USB-Anschluss an einem Computer (PC) verbunden, auf dem die SWIN-Software ausgeführt wird.

Lagerung, Haltbarkeit und Handhabungsbedingungen

Die Platten sind bei Raumtemperatur (15 bis 25 °C) vor direktem Sonnenlicht und direkter Wärme geschützt aufzubewahren. Jede Platte ist zusammen mit einem Silikagel-Trockenmittel folienverpackt. Die Platte nicht verwenden, wenn (1) die Farbe des Trockenmittels nicht orange ist, (2) das Verfallsdatum abgelaufen ist oder (3) der Folienbeutel beschädigt ist. Die Platte nach Entnahme aus dem Beutel innerhalb von 5 Stunden beimpfen.

Warnungen und Sicherheitsmaßnahmen

Die Ergebnisse sollten die Wahl des geeigneten Arzneimittels für die Behandlung lediglich stützen. Das System darf nur von geschultem Personal verwendet werden. Es sind geeignete Handhabungs- und Entsorgungsverfahren anzuwenden. Wenn die Folienverpackung beschädigt ist oder das Trockenmittel nicht orange ist, das Produkt nicht verwenden.

Beim Anbringen der selbstklebenden Abdeckfolie Faltenbildung vermeiden, da dies zu fehlerhaften Ergebnissen oder zum Überspringen von Wells führen kann. Ein blaues Well in einer Reihe rosafarbener Wachstums-Wells weist auf ein übersprungenes/fehlerhaftes Ergebnis hin und sollte ignoriert werden. Die MHK sollte oberhalb aller übersprungenen Wells abgelesen werden. Wenn mehr als ein Well übersprungen wird, sollte das Antimykotikum nicht berichtet werden.

Die unten aufgeführten Inkubationsverfahren beachten, da Inkubationstemperaturen über 35 °C die Leistung beeinträchtigen können.

Es sind keine vernünftigerweise vorhersehbaren äußeren Einflüsse zu erwarten, die die ordnungsgemäße Funktion dieses Produkts im routinemäßigen Gebrauch beeinträchtigen. Das Produkt reagiert empfindlich auf Feuchtigkeit und Temperatur und sollte gemäß den in dieser Gebrauchsanweisung und auf der Verpackung angegebenen ordnungsgemäßen Lagerungs- und Handhabungsbedingungen verwendet werden.

Es besteht ein gewisses Restrisiko, dass der Benutzer oder die Umwelt giftigen/gefährlichen/infektiösen Materialien ausgesetzt wird. Diese Risiken werden durch geschultes klinisches Fachpersonal gemindert, das das Produkt unter Beachtung der geltenden Vorsichtsmaßnahmen für mikrobielle Gefahren und der im Sicherheitsdatenblatt (SDB) und in der Gebrauchsanweisung aufgeführten Warnhinweise verwendet.

Das Produkt enthält keine CMR-Stoffe, keine endokrin wirkenden Substanzen oder Materialien, die bei normalem Gebrauch allergische Reaktionen hervorrufen könnten.

Das Produkt enthält kein infektiöses Material. Kulturen, Behälter und andere kontaminierte Materialien müssen nach Gebrauch entsprechend den Richtlinien zur Handhabung und Entsorgung biologisch gefährlicher Abfälle sterilisiert werden.

Informationen zur sicheren Handhabung und Entsorgung des Produkts finden Sie im Sicherheitsdatenblatt unter www.trekds.com/techinfo.

Störsubstanzen und Einschränkungen

1. Die Sensititre YeastOne Platten YO10 und ITAMYUCC sind ausschließlich für die Verwendung mit *Candida*-Arten bestimmt. Sie sind nicht für *Cryptococcus*-Arten, *Aspergillus*-Arten und verschiedene schnell wachsende Hefepilzarten geeignet. Sie sind nicht für anspruchsvolle oder langsam wachsende Hefepilze wie *Histoplasma* oder *Blastomyces* sowie filamentäre Pilze geeignet.
2. Aufgrund der geringen Wirksamkeit von Fluconazol, Anidulafungin und Voriconazol bei *C. tropicalis* sollten Isolate von *C. tropicalis* mit einer alternativen Methode getestet werden.
Es wurde ein Vergleich zwischen dem Sensititre YeastOne System nach 24 Stunden und der CLSI-Referenzmethode nach 48 Stunden durchgeführt. Aufgrund der Schwierigkeit, Endpunkte nachlaufender Organismen („Trailing“) (*C. albicans*) zu korrelieren, traten nach 48 Stunden Inkubation hohe Fehlerraten auf. Die offiziellen CLSI-Standards M27-Ed4 2017 empfehlen, dass für klinische Isolate und QK-Stämme nach 24 Stunden Messwerte ermittelt werden sollten.
3. Tests von Pilzen und Antimykotika sind immanent weniger präzise als Tests von Bakterien.
4. Weitere Informationen finden Sie im CLSI-Standard M27, „Antifungal Susceptibilities for Yeast“.
5. Der Indikator für den Endpunkt ist die Farbänderung, nicht die Trübung. Dieser Umstand entkräftet einige der Hauptbedenken bei der Interpretation für bestimmte *Candida*-Arten aufgrund von „Trailing“. Trailing wird

häufiger bei Isolaten beobachtet, die nicht aus Blutproben oder anderen sterilen Körperflüssigkeiten gewonnen werden.

6. Führen Sie die Messung nach 24 Stunden nicht durch, wenn in der Kontrollvertiefung noch kein vollständiger Farbwechsel von Blau nach Rosa erfolgt ist.
7. Nur mit für das Sensititre System zugelassener Inokulum-Nährlösung für Hefeempfindlichkeit verwenden. Die Verwendung anderer Nährlösungen könnte zu Fehlern führen.
8. Wie bei jeder *In-vitro*-Empfindlichkeitstestmethode sollten die Testergebnisse mit der klinischen Reaktion des Patienten auf die verschriebene Therapie korreliert werden.
9. Die Korrelation der MHK für Caspofungin mit dem Behandlungsergebnis nach der Anwendung von Caspofungin wurde bisher nicht vollständig ermittelt⁹.
10. Zur Meldung von Ergebnissen mit Sensititre Produkten dürfen nur vom Sensititre System unterstützte Geräte verwendet werden, z. B. ein einfacher Spiegelbetrachter, Sensititre Vizion. Andere Systeme werden nicht unterstützt.
11. Itraconazol kann gelegentlich bei Konzentrationen von $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ aus der Lösung ausfallen. Dies kann dazu führen, dass das betroffene Well Wachstum zeigt und sich rosa färbt.

Antimykotische Einschränkungen

Antimykotische Wirkstoffe	Organismus	Einschränkung
Caspofungin	<i>Candida</i> spp. außer <i>Candida glabrata</i>	Die Fähigkeit der Caspofungin-haltigen Sensititre-Platte, resistente Stämme zu bestimmen, ist derzeit nicht erwiesen, da eine unzureichende Anzahl resistenter Isolate getestet wurde.
Fluconazol	<i>Candida glabrata</i>	Die Fähigkeit der Fluconazol-haltigen Sensititre-Platte, resistente Stämme zu bestimmen, ist derzeit nicht erwiesen, da eine unzureichende Anzahl resistenter Isolate getestet wurde.
Caspofungin	<i>Candida tropicalis</i> und <i>Candida albicans</i>	Die MHK-Werte mit dem Sensititre YeastOne System für Empfindlichkeitstests mit Caspofungin im Verdünnungsbereich von 0,015-16 µg/ml stimmten tendenziell genau überein oder lagen mindestens eine Verdopplungsverdünnung höher für <i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> und <i>C. glabrata</i> im Vergleich zur CLSI-Referenzmethode für die Mikroverdünnung von Nährlösungen.
Anidulafungin Fluconazol Voriconazol	<i>Candida tropicalis</i>	Aufgrund der schlechten Leistung des Sensititre YeastOne Systems für Empfindlichkeitstests mit Anidulafungin, Fluconazol und Voriconazol in der Vergleichsstudie, sollten <i>C. tropicalis</i> -Isolate mit einer alternativen Methode getestet werden.
Caspofungin	<i>Candida glabrata</i>	Aufgrund der kategorischen Übereinstimmung von weniger als 90 % mit dem Sensititre YeastOne System für Empfindlichkeitstests im Vergleich zur CLSI-Methode zur Mikroverdünnung von antimykotischen Nährlösungen, die durch das Auftreten von kategorischen Fehlern verursacht wird, und um potenziell falsche Empfindlichkeitsergebnisse zu vermeiden, ist vor der Meldung der Ergebnisse für Caspofungin und <i>C. glabrata</i> eine alternative

		Testmethode durchzuführen, wenn MHK ≤ 0,12 µg/ml ist.
Itraconazol	<i>Candida lusitanae</i>	Aufgrund der niedrigen Leistung (EA < 90 %) von Itraconazol mit <i>C. lusitanae</i> , sollten Isolate von <i>C. lusitanae</i> mit einer alternativen Methode untersucht werden.

Schwerwiegende Vorkommnisse

Alle schwerwiegenden Vorkommnisse, die im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, müssen dem Hersteller sowie der zuständigen Zulassungsbehörde, in deren Zuständigkeitsbereich der Anwender und/oder Patient ansässig ist, gemeldet werden.

Handhabung und Vorbereitung der Probe

Proben sollten mithilfe von Standardverfahren gewonnen, transportiert, gelagert und auf primäre Isolationsmedien plattiert werden¹.

Beimpfungsverfahren

Alle Nährlösungen vor der Verwendung auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Nach Entnahme aus dem Beutel sollte die Beimpfung der Platten innerhalb der nächsten 5 Stunden erfolgen. Es wird eine endgültige Organismuskonzentration von ca. 1,5 bis 8 x 10³ KBE/ml empfohlen. Die für das Sensititre System zugelassenen Nährlösungen werden hinsichtlich ihrer Funktion bei Verwendung mit dem Sensititre System geprüft. Das Sensititre YeastOne System ist derzeit nur für MHK-Bestimmungen unter Verwendung von CLSI-Referenzmethoden und -standards geeignet.

Schritt 1 und 2 sollten innerhalb von 15 Minuten durchgeführt werden.

1. Aus einer 24-Stunden-Reinkultur (Sabouraud-Dextrose-Agar) des Hefeisolats mehrere gut isolierte Kolonien mit einem Durchmesser > 1 mm auswählen und in entmineralisiertem Wasser emulgieren. Gut durchmischen, um sicherzustellen, dass die Suspension homogen ist, bei Bedarf einen Vortexmischer verwenden. Falls es zu Verklumpung kommt, die Klumpen am Boden absetzen lassen, bevor die Dichte angepasst wird. Die Suspension visuell oder mit einem Sensititre Nephelometer an einen 0,5-McFarland-Standard anpassen.
2. 20 µl der Suspension in 11 ml Sensititre YeastOne-Nährlösung übertragen, um ein endgültiges Inokulum von 1,5 bis 8 x 10³ KBE/ml zu erhalten.
3. Innerhalb von 15 Minuten nach Abschluss von Schritt 2 100 µl der endgültigen Suspension auf die Sensititre YeastOne Platte übertragen. Dazu eines der beiden folgenden Verfahren verwenden:
 - a. **Sensititre AIM** – Die Verschlusskappe des Röhrchens durch einen Sensititre Einwegdosierkopf ersetzen und die Platte gemäß dem Sensititre AIM Benutzerhandbuch beimpfen. Die Teströhrchen/Dosierkopf-Kombination innerhalb von 30 Sekunden nach der Dosierung einer Platte aus dem Sensititre AIM System entnehmen und umgedreht in einem Gestell aufbewahren oder entsorgen.
 - b. **Manuelles Pipettieren** – Die Nährlösung in ein steriles Saatgefäß gießen und die Platte mit einer geeigneten Pipette beimpfen.
4. Die Koloniezahl sollte überprüft werden, indem 10 µl aus dem Positivkontroll-Well entfernt und auf den Sabouraud-Dextrose-Agar (SDA) plattiert werden. Ein korrektes Inokulum produziert 15 bis 80 Kolonien.
5. Alle Wells mit der selbstklebenden Abdeckfolie abdecken. Beim Anbringen der selbstklebenden Abdeckfolie darauf achten, dass sich keine Falten bilden.

Inkubation

Die Platten 24 bis 25 Stunden lang bei 35 °C in einem Inkubator ohne CO₂ inkubieren. Eine Inkubation bei Temperaturen über 35 °C kann die Leistung der Platten beeinflussen.

Interpretation der Ergebnisse und Berechnung des Analyseergebnisses

Die Platten können bei normaler Laborbeleuchtung mit einem manuellen Spiegelbetrachter oder mithilfe des Sensititre Vizion Systems visuell ausgewertet werden (weitere Informationen finden Sie im Benutzerhandbuch des Sensititre Vizion Systems).

Das Hefewachstum in den antimykotischen Lösungen ist durch eine Änderung des kolorimetrischen Wachstumsindikators von blau (negativ) nach rosa (positiv) erkennbar. Bei einigen Hefearten wechselt der Indikator möglicherweise nicht vollständig zu rosa, sondern weist eine mittlere violette Farbe auf. Einige Organismen können in der Gegenwart von Fluconazol, Itraconazol, Ketoconazol, Posaconazol und Voriconazol violette Farben aufweisen. Eine Farbveränderung zu einem gebleichten Rosa oder Violett geht mit einem guten Wachstum einher und sollte als positiv gewertet werden.

So interpretieren Sie die Ergebnisse:

1. Nach der Inkubation das positive Wachstums-Well überprüfen.
2. Wenn das positive Wachstums-Well rosa ist, können die Endpunkte für die Antimykotika bestimmt werden. Wenn das Well blau oder schwach violett ist, erneut für weitere 24 Stunden inkubieren und erneut untersuchen.

Nicht die Trübung, sondern nur die Farbänderung auf der Sensititre YeastOne Platte ablesen.

3. Die MHK ist die niedrigste Konzentration eines Antimykotikums, die das Wachstum des Organismus erheblich hemmt, erkennbar an einer Farbänderung von rosa nach blau.

Interpretation der Testergebnisse

Tabelle 4. Beispiele typischer Testergebnisse und deren Interpretation.

Well-Konzentration µg/ml							R = ROSA: Positives Wachstumsindiz B = BLAU: Negatives Wachstumsindiz
	1	2	4	8	16	32	
A.	R	R	R	B	B	B	Typisches Wachstumsmuster; MHK-Endpunkt ist 8 µg/ml.
B.	R	R	R	R	R	R	Wachstum in allen Wells; MHK-Endpunkt ist > 32 µg/ml.
C.	B	B	B	B	B	B	Kein Wachstum in allen Wells; MHK-Endpunkt ist ≤ 1 µg/ml.
D.	R	R	R	B	R	R	„Übersprungenes Well“. MHK-Endpunkt ist > 32 µg/ml. Ein übersprungenes Well sollte ignoriert werden, falls die Wells zu beiden Seiten Wachstum aufweisen. Falls in einer Spalte mehrere „Sprünge“ auftreten, sind die Testergebnisse ungültig*
E.	R	R	B	B	R	R	Doppeltes „übersprungenes Well“. Der Test sollte wiederholt werden. *

*Bei sorgfältiger Anwendung der Technik geschieht dies nur selten.

Wenn MHKs für *Candida* spp. mithilfe einer Skala gemessen werden, die Ergebnisse liefert, die zwischen den Kategorien liegen, gilt die nächsthöhere Kategorie. Somit würde ein Isolat mit einer Fluconazol-MHK von 12,5 µg/ml in die Kategorie S-DD eingeordnet (19).

Hinweise zur Auswertung

Amphotericin B.

Die Endpunkte für Amphotericin B nach 24 Stunden können in der Regel einfach bestimmt werden; als MHK wird die niedrigste Wirkstoffkonzentration abgelesen, die eine sichtbare Farbänderung verhindert. Durch Trailing nachlaufende Endpunkte kommen bei Amphotericin B gewöhnlich nicht vor.

Das erste Well, das eine deutliche Farbänderung im Vergleich zum Well mit der Wachstums-Positivkontrolle zeigt, ist die MHK.



Flucytosin- und Azol-Antimykotika

Candida albicans, *C. glabrata* und *C. tropicalis* mit Flucytosin und Azolen, wie beispielsweise Fluconazol, Itraconazol, Ketoconazol, Voriconazol und Posaconazol, können zu Endpunkten führen, die typischerweise aufgrund von nachlaufendem Wachstum („Trailing“) weniger scharf definiert sind. Dies kann eine bedeutende Quelle für Variationen darstellen. Trailing tritt auf, wenn eine leichte Farbänderung bestehen bleibt, und ist oftmals für alle

Wirkstoffkonzentrationen oberhalb der MHK identisch. Der MHK-Wert sollte so interpretiert werden, dass das erste Well im Vergleich zum Well mit der Wachstums-Positivkontrolle eine weniger intensive Farbänderung aufweist (was auf einen Rückgang des Wachstums um 50 % hinweist).

Referenzstämme mit definierter Empfindlichkeit können ebenfalls dabei helfen, das Personal zu schulen. Bei Isolaten von *Candida krusei* wird davon ausgegangen, dass sie von Natur aus resistent gegen Fluconazol sind; ihre MHKs sollten nicht interpretiert werden¹. Das angegebene Testergebnis sollte kommentiert werden.

Durch Trailing nachlaufender Endpunkt: Dies tritt auf, wenn eine leichte Farbänderung bestehen bleibt und oft in mehreren Konzentrationen identisch ist. Der MHK-Wert sollte als das erste Well abgelesen werden, das im Vergleich zum Well mit der Wachstums-Positivkontrolle eine weniger intensive Farbänderung aufweist (deutlich nach einer vollständigen Farbänderung zu Rosa).



Echinocandine

Die MHK-Endpunkte sollten nach 24-stündiger Inkubation bei 35 °C bestimmt werden. Als MHK sollte das erste Well abgelesen werden, das eine weniger intensive Farbänderung im Vergleich zum Positivkontroll-Well aufweist.



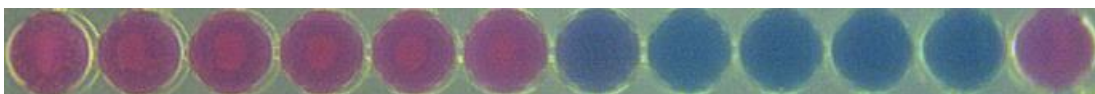
Itraconazol

Itraconazol kann bei Konzentrationen von $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ gelegentlich ausfallen (gut hervorgehoben durch das schwarze Quadrat). Dies kann dazu führen, dass das betroffene Well Wachstum zeigt und sich rosa färbt.



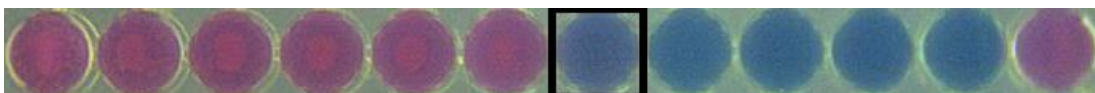
Gelegentlich kann bei den höheren Konzentrationen von Itraconazol auf den Sensititre YeastOne Platten ein unerwartetes Wachstum beobachtet werden, das zu einer Rosafärbung dieser Wells führt.

Dieser paradoxe Effekt, der auch als Eagle-Phänomen bekannt ist¹⁸, tritt auf, wenn ein Anstieg der antimikrobiellen Konzentration über einen bestimmten Punkt hinaus zu einem Anstieg der Anzahl an Mikroorganismen führt, die überleben. Dies kann auf eine selbstantagonisierende Wirkung des zugehörigen Bindungsrezeptors zurückzuführen sein (z. B. Penicillin-bindende Proteine im Fall von Penicillin).



Auflösung

Das Wachstum bei der hohen Konzentration sollte ignoriert werden, es sei denn, es liegt ein Wachstum bei allen anderen Konzentrationen von Itraconazol vor. Im folgenden Beispiel sollte das MHK-Ergebnis in dem mit dem schwarzen Quadrat markierten Well abgelesen werden.



Wenn Sie weitere Fragen oder Bedenken haben, wenden Sie sich wie folgt an den technischen Support: Telefon +44 (0) 1256 694287, Fax: +44 (0) 1256 463388 oder verwenden Sie die unten aufgeführten E-Mail-Adressen zur Kontaktaufnahme.

Kontamination und übersprungene Wells

Beachten Sie, dass ein rosafarbenes Well (Wachstum) zwischen blauen Wells (kein Wachstum) ein Hinweis auf eine Kontamination sein kann. Mit dem Inhalt des Wells eine Subkultur anlegen, um die Ursache festzustellen.

Ein blaues Well in einer Reihe rosafarbener Wachstums-Wells weist auf ein übersprungenes Well hin und sollte ignoriert werden (siehe oben). Die MHK sollte oberhalb aller übersprungenen Wells abgelesen werden. Wenn mehr als ein Well übersprungen wird, sollte das Antimykotikum nicht berichtet werden.

Verfahren zur Qualitätskontrolle

Die Häufigkeit der Durchführung von Qualitätskontrollen sollte gemäß den vor Ort geltenden Leitlinien festgelegt werden¹.

Zur Überprüfung der Reinheit sollte eine Kultur des Inokulums auf einem geeigneten Medium angelegt werden. Wenn eine Mischkultur vorhanden ist, sind die Testergebnisse ungültig.

Alle Sensititre Platten enthalten Wells zur Positivkontrolle. Die Tests sind nur dann gültig, wenn in allen Positivkontroll-Wells deutliches Wachstum beobachtet wird.

Kontrollmaterialien/-stämme

Für die Qualitätskontrolle durch den Anwender werden die folgenden Kulturen der American Type Culture Collection (ATCC™) empfohlen:

- *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) - ATCC 6258
- *Candida parapsilosis* - ATCC 22019

Ergebnisse dürfen **nicht** berichtet werden, wenn die QK-Ergebnisse nicht im erwarteten Bereich liegen.

Die Beimpfung, Ablesung und Interpretation von Sensititre YeastOne Platten für Empfindlichkeitstests bei der Durchführung von Qualitätskontrolltests durch den Anwender ist wie im vorhergehenden Abschnitt beschrieben durchzuführen.

Tabelle 5. Empfohlene 24- und 48-Stunden-MHK-Grenzwerte für zwei Qualitätskontrollstämmen gemäß Nährlösung-Mikrodilution CLSI M27². Von den veröffentlichten Qualitätskontrollbereichen abweichende oder zusätzliche Bereiche sind unterstrichen.

Antimykotikum	<i>Issatchenkia orientalis</i> ATCC6258™		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019™	
	24 Stunden	48 Stunden	24 Stunden	48 Stunden
5-Flucytosin	4–16	8–32	<u>0,12–0,5*</u>	0,12–0,5
Amphotericin B	0,5–2	1–4	0,25–2	0,5–4
Anidulafungin	0,03–0,12	-	0,25–2	-
Caspofungin	0,12–1	0,25–1	0,25–1	0,5–4
Fluconazol	8–64	16–128	0,5–4	2–8
Itraconazol	0,12–1	0,25–1	0,06–0,5	0,06–0,5
Micafungin	0,06–0,5*	0,12–0,5	0,5–2	0,5–4
Posaconazol	0,06–0,5	0,12–1	0,03–0,25	0,06–0,25
Voriconazol	0,06–0,5	0,12–1	0,015–0,12	0,03–0,25
Isavuconazol	0,06–0,5	0,12–1,0*	0,015–0,06	0,03–0,12*

* **Sensititre Bereich** (ein intern generierter QK-Bereich, der zum Zeitpunkt der Produktentwicklung unter Verwendung der CLSI M27-Methodik erstellt wurde)

Die erwarteten QK-Werte sind in CLSI M27M44S¹⁹ angegeben..

Weitere Informationen zur Interpretation der Ergebnisse finden Sie in CLSI¹.

Spezifische Leistungsmerkmale

Manuell abgelesene Panels sind so konzipiert, dass sie eine vergleichbare Leistung wie das CLSI-Referenzverfahren für die Mikronährlösung bieten. Vergleichbare Leistung ist definiert als > 90%ige wesentliche und kategorische Übereinstimmung mit dem Wert innerhalb von zwei doppelten Verdünnungen der Referenz-MHK¹.

Präzision der Messung:

Die wesentliche Übereinstimmung beim Testen von QK-Organismen auf Sensititre Platten ist in Tabelle 6 zu finden. Eine wesentliche Übereinstimmung wird angegeben, wenn die Ergebnisse innerhalb von 2 Wells (Reihenverdünnung) des Ergebnisses der Modell-MHK oder der gefrorenen Referenz liegen.

Tabelle 6: Wesentliche Übereinstimmung von QK-Organismen auf Sensititre Platten

Antimikrobieller Wirkstoff	Anzahl der Tests	Ergebnisse mit wesentlicher Übereinstimmung
Amphotericin B	126	126 (100 %)
Anidulafungin	154	154 (100 %)
Caspofungin	32	32 (100 %)
Fluconazol	123	123 (100 %)
5-Flucytosin	155	155 (100 %)
Itraconazol	135	135 (100 %)
Micafungin	22	22 (100 %)
Posaconazol	32	32 (100 %)
Voriconazol	40	40 (100 %)
Isavuconazol	144	144 (100 %)

Wiederholpräzision und Reproduzierbarkeit:

Tägliche Wiederholungstests, die über drei verschiedene Zeiträume durchgeführt wurden, sind in Tabelle 7 zusammengefasst. Die Wiederholbarkeit und Reproduzierbarkeit von Sensititre-Platten ist zu ≥ 95 % gewährleistet im Vergleich mit den CLSI M27M44S QK-Bereichen oder den internen QK-Bereichen von Sensititre.

Tabelle 7: Manuelle Daten von Sensititre Platten über drei verschiedene Zeiträume

Antimikrobieller Wirkstoff	Anzahl der Wiederholungen	Ergebnisse, die in die QK-Bereiche von CLSI M27M44S oder die internen Sensititre QK-Bereiche fallen.
Amphotericin B	67	67 (100 %)
Anidulafungin	35	35 (100 %)
Caspofungin	112	112 (100 %)
Fluconazol	53	53 (100 %)
5-Flucytosin	35	35 (100 %)
Itraconazol	35	35 (100 %)
Micafungin	30	30 (100 %)
Posaconazol	96	96 (100 %)
Voriconazol	35	35 (100 %)
Isavuconazol	144	144 (100 %)

Analytische Sensitivität

Manuelle Empfindlichkeitstests, die an QK-Organismen auf Sensititre Platten durchgeführt wurden, zeigen eine Übereinstimmung von ≥ 95 % mit den QK-Bereichen von CLSI M27M44S oder den internen Sensititre Bereichen.

Tabelle 8: Ergebnisse manueller Empfindlichkeitstests, die an QK-Organismen durchgeführt wurden.

Antimikrobieller Wirkstoff	Anzahl der Tests	Ergebnisse, die in die QK-Bereiche von CLSI M27M44S oder die internen Sensititre QK-Bereiche fallen.
Amphotericin B	126	126 (100 %)
Anidulafungin	154	154 (100 %)
Caspofungin	112	112 (100 %)
Fluconazol	123	123 (100 %)
5-Flucytosin	155	155 (100 %)
Itraconazol	135	135 (100 %)
Micafungin	100	100 (100 %)
Posaconazol	112	112 (100 %)
Voriconazol	115	115 (100 %)
Isavuconazol	144	144 (100 %)

Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität ist für dieses Produkt nicht anwendbar, da eine Reinkultur verwendet wird und keine Kreuzreaktivität und/oder endogene/exogene Störquellen vorliegen.

Nachweisgrenze

Die Nachweisgrenze für die Platte ist 1 Log-Verdünnung in µg/ml (z. B. 0,03–0,06). Alles, was zwischen diesen Konzentrationen liegt, gilt als nicht nachgewiesen.

Tabelle 9: Klinische Leistungsmerkmale für die Sensititre-Platten, die die folgenden Antimykotika enthalten, bewertet unter Verwendung der CLSI-Referenzmethode und -Breakpoints.

Antimikrobieller Wirkstoff	Anzahl der getesteten Isolate	Kategorie Übereinstimmung CLSI	Kategorie Übereinstimmung (%) CLSI	VME %	ME %	mE %
Amphotericin B	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*
Anidulafungin ^a	449	424	99,3 %	0,0	0,0	3,0
Caspofungin	573	572	99,8 %	0,0	1,0	0,0
Fluconazol ^a	1019	667	92,6 %	1,89	0,92	3,53
5-Flucytosin	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*
Itraconazol	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*
Micafungin	315	314	99,7	0,0	0,0	0,3
Posaconazol	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*
Voriconazol ^a	298	204	94,7 %	5,0 ^b	0,0	4,7
Isavuconazol	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*	n. z.*

* Die Breakpoints (BP) gemäß CLSI M60 (nun M27M44S), 2. Ausgabe sind nicht mehr verfügbar.

a – Aufgrund der geringen Wirksamkeit von Fluconazol, Voriconazol und Anidulafungin bei *C. tropicalis* sollten Isolate von *C. tropicalis* mit einer alternativen Methode getestet werden.

b – Es gab einen sehr schwerwiegenden Fehler für *C. albicans*, der vermutlich mit einer falschen Interpretation der Referenzmethode aufgrund nachlaufender („Trailing“) Endpunkte zusammenhängt und daher als zufälliger Fehler angesehen wurde.

c – Die Leistungsmerkmale der angegebenen Antimykotika wurden nur anhand der regulatorischen CLSI-Kriterien bewertet. Die verfügbaren Daten waren unzureichend oder inkompatibel, um die Übereinstimmung mit der EUCAST-Methode festzustellen.

Eine weitere Quelle klinischer Daten wurde ebenfalls zwischen 2015 und 2021 mit den in Tabelle 10 unten beschriebenen Leistungsmerkmalen erhoben. Dies wurde ursprünglich durchgeführt, um die Antimykotika auf Sensititre-Platten anhand der EUCAST-Methode zu bewerten, jedoch führten Änderungen an den EUCAST-Richtlinien und -Methoden in Bezug auf gewebebehandelte Platten dazu, dass die Daten für diesen Zweck nicht kompatibel waren. Die erhaltenen Daten wurden ebenfalls unter

Verwendung der CLSI-Methode und -Referenzmethode bewertet. Diese Beurteilung ist nachfolgend dargestellt.

Tabelle 10. Klinische Leistungsmerkmale für die Sensititre-Platten, die die folgenden Antimykotika enthalten, aus einer Bewertung von 2015-2021 unter Verwendung der CLSI-Referenzmethode und -Breakpoints.

Antimikrobieller Wirkstoff	Anzahl der getesteten Isolate	Kategorie Übereinstimmung	Kategorie Übereinstimmung (%)	Wesentliche Übereinstimmung	Wesentliche Übereinstimmung (%)
Anidulafungin ^a	1150	940	95,6	1072	93,2
Caspofungin	499	401	93,9	493	98,8
Fluconazol ^a	1150	727	91,9	1116	97,0
5-Flucytosin	498	n. z.*	n. z.*	493	99,0
Itraconazol	1148	n. z.*	n. z.*	1082	94,3
Micafungin	651	545	98,0	646	99,2
Posaconazol	499	n. z.*	n. z.*	481	96,4
Voriconazol ^a	1151	674	89,2 ^b	1112	96,6
Isavuconazol	499	n. z.*	n. z.*	484	97,0

* Die Breakpoints (BP) gemäß CLSI M60 (nun M27M44S), 2. Ausgabe sind nicht mehr verfügbar.

a – Aufgrund der geringen Wirksamkeit von Fluconazol, Voriconazol und Anidulafungin bei *C. tropicalis* sollten Isolate von *C. tropicalis* mit einer alternativen Methode getestet werden.

b – Die kategorielle Übereinstimmung für Voriconazol fällt knapp unter das > 90%-CLSI-Kriterium, da *C. tropicalis*-Isolate schlecht abschneiden (74,3 %), was die Gesamt-KU für dieses Antimykotikum verringert. Da *C. tropicalis*-Isolate eine Beschränkung für Tests mit Voriconazol haben, kann diese KU gerechtfertigt werden.

Kontaktinformationen des Herstellers

Die neuesten technischen Informationen sind unter www.trekds.com/techinfo verfügbar oder können beim technischen Kundendienst von Thermo Fisher Scientific Microbiology angefragt werden.



TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17–19,
Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex, RH19 1XZ,
Vereinigtes Königreich
Tel.: +44 13423 18777



Das ATCC Licensed Derivative®-Emblem, die ATCC Licensed Derivative®-Wortmarke und die ATCC-Katalogmarken sind Marken von ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. ist lizenziert, diese Marken zu verwenden und Produkte zu verkaufen, die von ATCC®-Kulturen abgeleitet sind.

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten. ATCC ist eine Marke von ATCC. Alle anderen Marken sind Eigentum der Thermo Fisher Scientific Inc. und ihrer Tochtergesellschaften.



E-Mail-Adressen des technischen Kundendienstes

Österreich	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgien	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Tschechische Republik	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Dänemark	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Frankreich	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finnland	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Deutschland	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italien	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Niederlande	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norwegen	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Spanien	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Schweden	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Vereinigtes Königreich	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

Symbole

Symbol/Kennzeichnung	Bedeutung
	Hersteller
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Temperaturgrenze (Lagertemp.)
	Chargenbezeichnung
	Bestellnummer
	Nicht wiederverwenden
	Gebrauchsanweisung beachten
	Inhalt ausreichend für 10 Tests
	Verfallsdatum
	Zeitraum nach dem Öffnen
	USA: Achtung: In den USA ist der Verkauf dieses Produkts per Bundesgesetz auf Ärzte oder ärztliche Anordnung beschränkt.
	Bei beschädigter Verpackung nicht verwenden. Gebrauchsanweisung beachten.
	Vor Sonnenlicht schützen
	Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft
	Importeur – Zur Angabe des Unternehmens, welches das Medizinprodukt in die Region einführt. Anwendbar auf die Europäische Union

Made in the
United Kingdom

Hergestellt im Vereinigten Königreich

Literaturverzeichnis

- (1) CLSI M27. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (2017 or latest edition). CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.
- (2) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric Antifungal Plate with the NCCLS, M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. **37**: 591-595.
- (3) Espinel-Ingroff A *et al.* (2002). Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel for testing voriconazole against Isolates of *Candida* spp., a comparison with the NCCLS M27-A microdilution reference method. *Clinical Microbiology and Infection*. **8**: Suppl 1. Abstract 0125.
- (4) Davey K G *et al.* (1998). Comparison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for in-vitro susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **42**: 439-444.
- (5) Linares M *et al.* (2005). Susceptibility of filamentous fungi to voriconazole tested by two microdilution methods. *Journal of Clinical Microbiology*. **43**: 250-253.
- (6) Kartsonis N *et al.* (2005). Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 3616-3623.
- (7) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of five antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. **50** :113-117.
- (8) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posiconazole and ravuconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 4577-4580.
- (9) Espinel-Ingroff A *et al.* (2004). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the NCCLS, M27-A2 reference method for testing new antifungal agents against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 718- 721.
- (10) Linares M *et al.* (2004). Comparison of two microdilution methods for testing susceptibility of *Candida* spp. to voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 899-902.
- (11) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other Yeasts and Yeast-Like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology* **37**: 591-595.
- (12) Barry A L *et al.* (2000). Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **38**: 3457-3459.
- (13) Canton E *et al.* (2005). Sensititre YeastOne® Caspofungin susceptibility testing of *Candida* clinical isolates: Correlation with results of NCCLS, M27-A2 multicenter study . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 1604 - 1607.
- (14) Holliday N M *et al.* (2007) A reproducibility study with two echinocandins using the Sensititre YeastOne® susceptibility plate. *American Microbiology Abstract* **C-191**.

(15) Torres-Nabona M *et al.* (2007) *In Vitro* activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of Zygomycetes: Comparison of NCCLS, M38-A, Sensititre_YeastOne® and the Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **51**: 1126 -1129.

(16) Espinel-Infgróff A (2006). Comparison of three commercial assays and a modified disk diffusion assay with two broth microdilution reference assays for testing Zygomycetes, *Aspergillus* spp, *Candida* spp, and *Cryptococcus neoformans* with posaconazole and Amphotericin B. *Journal of Clinical Microbiology* **44**: 3616-3622

(17) Alexander B D *et al.* (2007). Comparative evaluation of Etest and Sensititre YeastOne® panels against the Clinical Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **45**: 698-706.

(18) Eagle H. (1948). A paradoxical zone phenomenon in the bactericidal action of penicillin *in vitro*. *Science*, 1948; 107: 44-45

(19) CLSI M27M44S. Performance Standards For Antifungal Susceptibility Testing Of Yeasts – 3rd Edition. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.



Návod k použití

***Destičky pro testování citlivosti Sensititre™
YeastOne™YO10 a ITAMYUCC společnosti Thermo
Scientific***

Sensititre™ YeastOne™YO10 a ITAMYUCC

Datum revize:

Srpen 2024

DESTIČKY PRO TESTOVÁNÍ CITLIVOSTI SENSITITRE YEASTONE SPOLEČNOSTI THERMO SCIENTIFIC - YO10 A ITAMYUCC

Určeno pro diagnostické použití *in vitro*

Destičky Sensititre jsou 96jamkové mikrotitrační destičky, které jsou k dispozici ve standardních i zakázkových formátech. K dispozici jsou různé antimikrobiální/antimykotické látky v různých rozsazích ředění (na široké škále formátů destiček). Destičky Sensititre YeastOne se používají ke stanovení minimální inhibiční koncentrace (MIC).

Po inokulaci standardizovanou suspenzí mikroorganismů se destičky uzavřou přilnavou fólií a inkubují se při teplotě 35 °C po dobu 24 hodin. Hodnoty MIC testovaných organismů se odečítají vizuálně s ohledem na kolorimetrickou změnu, aby se určila nejnížší antimykotická koncentrace, která inhibuje růst izolátu.

Tento dokument návodu k použití (IFU) se vztahuje na dvě destičky z řady Sensititre YeastOne, YO10 a ITAMYUCC, které budou dále označovány jako „destička“. Pokud není výslovně uvedeno, všechny informace platí pro obě destičky.

Určené použití

YO10 a ITAMYUCC jsou diagnostické prostředky *in vitro* určené pro použití s kultivovanými vzorky od pacientů s podezřením na kvasinkovou infekci.

Destička představuje semikvantitativní test pro testování citlivosti klinických izolátů *Candida* spp. Prostředek se používá v diagnostických pracovních postupech, aby lékařům pomohl při určování potenciálních možností léčby u pacientů s podezřením na kvasinkovou infekci, není automatizován a vyžaduje čistou kulturu pěstovanou v agaru. Prostředek je určen pouze pro profesionální použití a není určen pro doprovodnou diagnostiku.

Principy metody

Klinický vzorek se po izolování a vyčištění ze vzorku pacienta naočkuje při známé buněčné hustotě do růstového média a nechá se inkubovat po dobu 24 hodin za přítomnosti vhodného rozsahu antimykotických koncentrací. Za MIC se považuje nejnížší koncentrace v log. rozmezí ředění, která nevykazuje změnu barvy. Koncentrace MIC pak může být propojena s pozitivní terapeutickou léčbou s využitím hraničních inhibičních koncentrací (breakpointů) schválených regulačními úřady, na základě identifikace organismu a místa infekce v těle. Určený uživatel pak může tyto informace použít k rozhodnutí o nejlepším postupu na základě těchto a dalších informací specifických pro pacienta.

Dodávané materiály

- Destičky Sensititre, 10 ks
- Přilnavá fólie, 10 ks

Rozvržení destiček

Umístění a koncentrace antimikrobiálních látek (µg/ml) jsou uvedeny na obrázcích 1 a 2. Zkratky léků naleznete v tabulce 1.

Obrázek 1: Rozložení a koncentrace léku v prostředku Sensititre YO10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
D	FC 0,06	FC 0,12	FC 0,25	FC 0,5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Obrázek 2: Rozložení a koncentrace léku v prostředku Sensititre ITAMYUCC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
D	ISA 0,008	ISA 0,015	ISA 0,03	ISA 0,06	ISA 0,12	ISA 0,25	ISA 0,5	ISA 1	ISA 2	ISA 4	ISA 8	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Tabulka 1: Zkratky antimikrobiálních látek použitých pro YO10 a ITAMYUCC

Zkratka	Antimikrobiální látky
POS	Pozitivní kontrola
MF	Mikafungin
CAS	Kaspofofungin
FC	5-flucytosin
PZ	Posakonazol
VOR	Vorikonazol
IZ	Itrakonazol
FZ	Flukonazol
AND	Anidulafungin
AB	Amfotericin B
ISA	Isavukonazol

Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky

Seznam materiálů, které nejsou dodávány s prostředkem, ale jsou vyžadovány pro správnou funkci destiček Sensititre YeastOne YO10 a ITAMYUCC, naleznete v tabulce 2.

Tabulka 2: *Popis materiálů, které nejsou dodávány s destičkami Sensititre YeastOne*

Komponenta	Kód výrobku	Popis
Bujón Sensititre YeastOne	Y3462	11 ml kvasinkového bujónu pro použití s destičkami Sensititre YeastOne
Demineralizovaná voda Sensititre	T3339	5 ml demineralizované vody pro použití s destičkami Sensititre.
0,5 McFarlandův standard zákalu	E1041	Standard používaný pro přípravu bakteriálních suspenzí
Bakteriologická klička	Neplatné	Inokulační klička pro použití při kultivaci bakterií a při přípravě
20µl pipeta a jednorázové špičky	Neplatné	Laboratorní nástroj běžně používaný k přepravě a dávkování odměřeného objemu kapaliny v jednorázové špičce
Sterilní zásobník na inokulum	Neplatné	Sterilní zásobník pro uložení mikrobiálních suspenzí
100µl pipeta a jednorázové špičky	Neplatné	Laboratorní nástroj běžně používaný k přepravě a dávkování odměřeného objemu kapaliny v jednorázové špičce

Volitelné nástroje, které se nedodávají

Nástroje, které lze použít s destičkami Sensititre YeastOne, ale nejsou nezbytné, jsou uvedeny níže:

Tabulka 3: *Volitelné nástroje, které lze použít s destičkami Sensititre YeastOne*

Komponenta	Kód výrobku	Popis
Nefelometr Sensititre	V3011	Nefelometr Sensititre se používá ke standardizaci hustoty inokula kvasinkové suspenze. Světlo z ultrajasných světelných diod (LED) je rozptylováno částicemi nebo mikrobiálními buňkami v suspenzi a detekováno fotodiodou. Množství rozptýleného světla se porovnává s referenční hodnotou získanou kalibrací nefelometru s McFarlandovým standardem zákalu 0,5
Thermo Scientific Sensititre AIM™ (Automatizovaný inokulační systém)	V3020	Sensititre AIM™ je mikroprocesorem řízený přístroj, který rychle dodává násobky 50 µl inokula do 96jamkové mikrotitrační destičky Sensititre.
Dávkovače Thermo Scientific Sensititre	E3010	Jednorázové, používané s AIM k dodání inokula do každé jamky destičky Sensititre.
Manuální prohlížeč	V4007	Zrcadlový ruční prohlížeč pro provádění jednoduchých vizuálních čtení destiček Sensititre
Digitální MIC prohlížeč Thermo Scientific Sensititre Vizion™	V2021	Vizion je přístroj, který pořídí digitální snímek destiček pro testování citlivosti Sensititre a odešle jej do softwarového systému SWIN, takže výsledky se zobrazí na PC se softwarem SWIN, kde si je může uživatel přečíst. Přístroj Vizion je připojen dodaným kabelem k USB portu na počítači (PC), na kterém je spuštěn SWIN software.

Skladování, doba použitelnosti a podmínky manipulace

Destičky je nutno skladovat při pokojové teplotě (15–25 °C) mimo dosah přímého slunečního záření a tepla. Každá destička je zabalena ve fólii se silikagelovým vysoušečem. Destičku nelze použít, pokud (1) barva vysoušedla není oranžová, (2) uplynula doba použitelnosti nebo (3) je poškozen fóliový obal. Destičku inokulujte do 5 hodin po vyjmutí z ochranného obalu.

Varování a bezpečnostní opatření

Výsledky by měly sloužit jako pomůcka při výběru léku pro léčbu. Systém smějí obsluhovat jen vyškolení pracovníci. Je třeba používat správné metody manipulace s organismy a jejich likvidace. Pokud je fóliový obal poškozený nebo vysoušedlo není oranžové, prostředek nelze použít.

Při nanášení přilnavé fólie se vyvarujte pomačkání, protože by to mohlo způsobit chybný výsledek nebo „vynechání jamky“. Modrá jamka v řadě červených růstových jamek znamená vynechání/chybný výsledek a je třeba ji ignorovat. Hodnota MIC by se měla odečítat nad případnými vynechanými jamkami. Pokud je vynechána více než jedna jamka, antimykotikum by nemělo být hlášeno.

Dodržujte níže uvedené inkubační postupy, protože inkubační teploty nad 35 °C mohou ovlivnit funkčnost.

Neexistují žádné rozumně předvídatelné vnější vlivy, které by ovlivnily správnou funkci tohoto prostředku při běžném používání. Prostředek je citlivý na vlhkost a teplotu a je třeba jej používat v souladu se správnými podmínkami skladování a manipulace uvedenými v tomto návodu k použití a na obalu.

Existuje určité reziduální riziko, že uživatel nebo prostředí budou vystaveni toxickým/nebezpečným/infekčním materiálům. Tato rizika jsou zmírněna používáním prostředku vyškolenými klinickými pracovníky v souladu se zavedenými opatřeními pro mikrobiální rizika a varováními uvedenými v bezpečnostním listu (SDS) a návodu k použití.

Prostředek neobsahuje reprodukčně toxické látky (CMR), látky narušující endokrinní systém ani materiály s pravděpodobností vyvolání alergické reakce při normálním používání.

Součástí prostředku není žádný infekční materiál. Kultury, nádoby a jiné kontaminované materiály musí být po použití sterilizovány v souladu s pokyny pro nakládání s biologicky nebezpečným odpadem a jeho likvidaci.

Informace o bezpečné manipulaci a likvidaci produktu naleznete v bezpečnostním listu dostupném na stránkách www.trekds.com/techinfo.

Interferující látky a omezení

1. Destičky Sensititre YeastOne YO10 a ITAMYUCC jsou určeny pouze pro použití u druhů *Candida*. Nejsou určeny pro druhy *Cryptococcus*, *Aspergillus* ani různé rychle rostoucí druhy kvasinek. Nejsou určeny pro náročné nebo pomalu rostoucí kvasinky, jako jsou *Histoplasma* nebo *Blastomyces*, ani pro vláknité houby.
2. Vzhledem k nízkému účinku flukonazolu, anidulafunginu a vorikonazolu u *C. tropicalis* by měly být izoláty *C. tropicalis* testovány alternativní metodou.
Bylo vyhodnoceno srovnání mezi systémem Sensititre YeastOne po 24 hodinách a referenční metodou CLSI po 48 hodinách. Vzhledem k obtížím při korelaci koncových bodů trailingových organismů (*C. albicans*) při 48hodinové inkubaci byla však pozorována vysoká chybovost. Oficiální standardy CLSI, M27-Ed4 2017, doporučují, aby se odečty pro klinické izoláty a kmeny QC prováděly po 24 hodinách.
3. Testování mykotických organismů a antimykotických činidel je ze své podstaty méně přesné než testování bakterií.
4. Další pokyny viz CLSI Citlivost vůči antimykotikům pro kvasinky, standard M27.
5. Změna barvy je indikátorem koncového bodu, nikoli zákal. Tato funkce pomáhá řešit problémy s interpretací určitých druhů *Candida* kvůli „trailingu“. Trailing je běžnější u jiných izolátů než u krve a dalších sterilních tělních tekutin.
6. Neodečítejte po 24 hodinách, pokud kontrolní jamka neprošla úplnou změnou barvy z modré na růžovou.
7. Používejte pouze s testovacím inokulárním bujónem k testování citlivosti kvasinek, schváleným pro Sensititre. Použití jiných bujónů může vést k chybě.
8. Stejně jako u jiných metod testování citlivosti *in vitro* by výsledky testování měly korelovat s klinickou odpovědí pacienta na předepsanou léčbu.
9. Souvislost MIC pro kaspofungin s výsledkem léčby po použití kaspofunginu nebyla zcela stanovena⁹.
10. Pro hlášení výsledků musí být s produkty Sensititre použity pouze prostředky podporované systémem Sensititre, tj. jednoduchý zrcadlový prohlížeč Sensititre Vizion. Žádný jiný použitý systém nebude podporován.
11. Itrakonazol se může příležitostně uvolňovat z roztoku v koncentracích ≥ 4 µg/ml. To může vést k růstu v zasažené jamce a jejímu zružování.

Omezení pro antimykotika

Antimykotikum (antimykotika)	Organismus	Omezení
Kaspofungin	<i>Candida</i> spp. kromě <i>Candida glabrata</i>	Schopnost destičky Sensititre obsahující kaspofungin stanovit rezistentní kmeny nebyla v současné době stanovena z důvodu testování nedostatečného počtu rezistentních izolátů.
Flukonazol	<i>Candida glabrata</i>	Schopnost destičky Sensititre obsahující flukonazol stanovit rezistentní kmeny nebyla v současné době stanovena z důvodu testování nedostatečného počtu rezistentních izolátů.
Kaspofungin	<i>Candida tropicalis</i> a <i>Candida albicans</i>	Hodnoty MIC se systémem citlivosti Sensititre YeastOne s kaspofunginem v rozmezí ředění 0,015-16 µg/ml měly tendenci být v přesné shodě nebo alespoň o jedno zdvojnásobení ředění vyšší pro <i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> a <i>C. glabrata</i> ve srovnání s mikrodiluční bujónovou referenční metodou CLSI.
Anidulafungin Flukonazol Vorikonazol	<i>Candida tropicalis</i>	Vzhledem ke špatné funkčnosti systému pro testování citlivosti Sensititre YeastOne s anidulafunginem, flukonazolem a vorikonazolem ve srovnávací studii by měly být izoláty <i>C. tropicalis</i> testovány alternativní metodou.
Kaspofungin	<i>Candida glabrata</i>	Vzhledem ke kategoriální shodě pod 90 % u systému pro testování citlivosti Sensititre YeastOne ve srovnání s mikrodiluční bujónovou referenční metodou s antimykotikem CLSI, která byla způsobena výskytem kategoriálních chyb, a abyste se vyhnuli potenciálním falešně citlivým výsledkům, proveďte před hlášením výsledků pro kaspofungin a <i>C. glabrata</i> alternativní metodu testování při $\leq$ MIC 0,12 µg/ml.
Itrakonazol	<i>Candida lusitanae</i>	Vzhledem k nízké funkčnosti (EA <90 %) itrakonazolu s <i>C. lusitanae</i> by měly být izoláty <i>C. lusitanae</i> testovány alternativní metodou.

Závažné události

Každou závažnou událost, ke které v souvislosti s prostředkem došlo, je třeba nahlásit výrobci a příslušnému regulačnímu úřadu v místě, kde se uživatel a/nebo pacient nachází.

Manipulace a příprava vzorku

Vzorky je třeba odebírat, přepravovat, skladovat a poté nanést na primární izolační médium za použití standardních postupů¹.

Postup inokulace

Před použitím nechte všechny bujóny vytemperovat na pokojovou teplotu. Destičky je třeba inokulovat do 5 hodin od vyjmutí z ochranného obalu. Doporučuje se konečná hustota organismů přibližně $1,5-8 \times 10^3$ KTJ/ml. Bujóny schválené pro Sensititre jsou testovány s ohledem na funkčnost při použití se systémem Sensititre. Systém Sensititre YeastOne je v současné době vhodný pouze pro stanovení MIC pomocí referenčních metod a standardů CLSI.

Kroky 1 a 2 by měly být dokončeny do 15 minut.

1. Z čisté 24hodinové kultury (Sabouraudův dextrózový agar) izolátu kvasinek odeberte několik dobře izolovaných kolonií o průměru >1 mm a tyto emulgujte do demineralizované vody. Dobře promíchejte a ujistěte se, že suspenze je rovnoměrná, v případě potřeby použijte vortex. Pokud dojde ke shlukování, nechte suspenzi usadit a teprve poté upravte hustotu. Vizualně nebo pomocí nefelometru Sensititre nastavte na 0,5 McFarlandova standardu.
2. Přeneste 20 μ l suspenze do 11 ml bujónu Sensititre YeastOne, tím vznikne konečné inokulum $1,5-8 \times 10^3$ KTJ/ml.
3. Přeneste 100 μ l konečné suspenze na destičku Sensititre YeastOne do 15 minut od dokončení kroku 2 a použijte jeden z těchto nástrojů:
 - a. **Sensititre AIM** – Vyměňte uzávěr zkumavky za jednorázový dávkovač Sensititre a inokulujte destičku podle uživatelské příručky k Sensititre AIM. Kombinaci zkumavky a dávkovače vyjměte ze systému Sensititre AIM do 30 sekund po dávkování a uložte ji obráceně do stojanu nebo ji zlikvidujte.
 - b. **Manuální pipetu** – Nalijte bujón do sterilní vaničky a destičku inokulujte pomocí vhodné pipety.
4. Kontrola počtu kolonií by měla být provedena odebráním 10 μ l z pozitivní kontrolní jamky a nanesením na Sabouraudův dextrózový agar (SDA). Správné inokulum vytvoří 15–80 kolonií.
5. Zakryjte všechny jamky přilnavou fólií. Dbejte na to, aby se na přilnavé fólii nevytvořily záhyby.

Inkubace

Po naočkování inkubujte destičky při 35 °C v inkubátoru bez obsahu CO₂ po dobu 24 až 25 hodin. Inkubační teploty nad 35 °C mohou ovlivnit funkčnost.

Interpretace výsledků a výpočet analytických výsledků

Destičky lze odečítat vizuálně při běžném laboratorním osvětlení pomocí manuálního zrcadlového prohlížeče nebo pomocí systému Sensititre Vizion (další informace naleznete v návodu k použití systému Sensititre Vizion).

Růst kvasinek v antimykotických roztocích bude patrný jako změna kolorimetrického růstového indikátoru z modré (negativní) na růžovou (pozitivní). Některé druhy kvasinek nemusí indikátor zcela změnit na růžovou, ale budou vykazovat středně fialové zabarvení. Některé organismy mohou u flukonazolu, itakonazolu, ketokonazolu, posakonazolu a vorikonazolu vykazovat fialové zabarvení. Změna barvy na vybledlou růžovou nebo fialovou je spojena s dobrým růstem a měla by být hodnocena jako pozitivní.

Interpretace výsledků:

1. Prozkoumejte pozitivní růstovou jamku po inkubaci.
2. Pokud je růstová jamka růžová, lze určit koncové body pro antimykotika. Pokud je jamka modrá nebo slabě fialová, inkubujte dalších 24 hodin a prozkoumejte znovu.

U destičky Sensititre YeastOne neodečítejte zákal, čtěte pouze změnu barvy.

3. MIC je nejnižší koncentrace antimykotika, které podstatně inhibuje růst organismu, jak je detekováno změnou barvy z růžové na modrou.

Interpretace výsledků

Tabulka 4. Příklady typických výsledků testů a jak je interpretovat.

Koncentrace v jamce µg/ml							R = RŮŽOVÁ: Indikace pozitivního růstu M = MODRÁ: indikace negativního růstu
	1	2	4	8	16	32	
A.	R	R	R	M	M	M	Typický charakter růstu; Koncový bod MIC je 8 µg/ml.
B.	R	R	R	R	R	R	Růst ve všech jamkách; Koncový bod MIC je >32 µg/ml.
C.	M	M	M	M	M	M	Žádný růst v žádné jamce; Koncový bod MIC je ≤1 µg/ml.
D.	R	R	R	M	R	R	„Vynechaná jamka“. Koncový bod MIC je >32 µg/ml. Na „vynechání“ se nebere ohled, pokud v jamkách na obou stranách probíhá růst. Pokud se ve sloupci vyskytne více než jedno „vynechání“, jsou výsledky testu zneplatněny.*
E.	R	R	M	M	R	R	Dvojitá „vynechaná jamka“. Test je třeba opakovat.*

*Při pečlivém postupu nejsou tyto případy běžné.

Pokud jsou minimální inhibiční koncentrace (MIC) pro *Candida* spp. měřeny pomocí stupnice, která poskytuje výsledky spadající mezi kategorie, předpokládá se následující vyšší kategorie. Izolát s flukonazolem o hodnotě MIC 12,5 µg/ml by tak byl zařazen do kategorie S-DD (19).

Poznámky k odečítání

Amfotericin B.

Pro amfotericin B po 24 hodinách jsou koncové body obvykle dobře definovatelné a MIC se odečítá jako nejnižší koncentrace léčiva, která zabrání jakékoli zřetelné změně barvy. Trailing v koncových bodech se u amfotericinu B obvykle nevyskytuje.

První jamka vykazující výraznou změnu barvy ve srovnání s pozitivní růstovou jamkou je MIC.



Flucytosin a azolová antimykotika

Candida albicans, *C. glabrata* a *C. tropicalis* s flucytosinem a azoly, jako jsou flukonazol, itraconazol, ketokonazol, vorikonazol a posakonazol, mohou poskytovat koncové hodnoty, které jsou obvykle méně ostré kvůli vleklému růstu (trailing growth) a mohou být významným zdrojem variability. Trailing nastává, když přetrvává mírná změna barvy, která je často stejná pro všechny koncentrace léčiva nad MIC. Hodnota MIC by měla být odečtena jako první jamka, která vykazuje méně intenzivní změnu barvy (což značí 50% snížení růstu) ve srovnání s pozitivní kontrolní jamkou pro růst.

Referenční kmeny s definovanou citlivostí mohou rovněž pomoci při školení personálu. Předpokládá se, že izoláty *Candida krusei* jsou inherentně rezistentní na flukonazol, a jejich MIC by neměly být interpretovány¹. K nahlášenému výsledku testu by měl být přiložen komentář.

Trailing v koncovém bodu: K tomu dochází, když přetrvává mírná změna barvy, která je často identická v několika koncentracích. Hodnota MIC by měla být odečtena jako první jamka, která vykazuje méně intenzivní změnu barvy ve srovnání s pozitivní kontrolní jamkou pro růst (jamka po kompletní změně na růžovou barvu).



Echinokandiny

Koncové body MIC by měly být stanoveny po 24 hodinách inkubace při 35 °C. Hodnota MIC by měla být odečtena jako první jamka, která vykazuje méně intenzivní změnu barvy ve srovnání s pozitivní kontrolní jamkou.



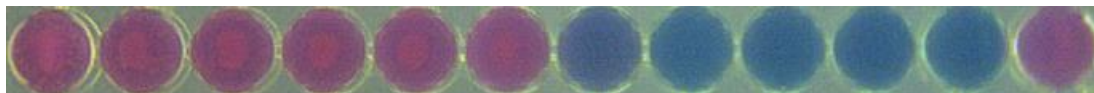
Itrakonazol

Itrakonazol se může příležitostně vysrážet při koncentracích ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ (jamka zvýrazněna černým čtverečkem). To může vést k růstu v zasažené jamce a jejímu zružovění.



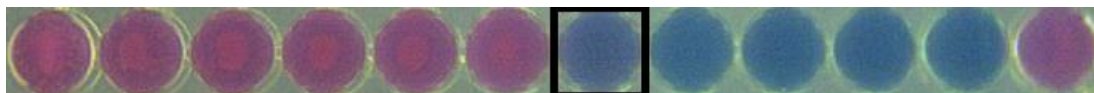
Příležitostně může být pozorován neočekávaný růst vyšších koncentrací itraconazolu na destičkách Sensititre YeastOne, což má za následek zružovění těchto jamek.

K tomuto paradoxnímu efektu, známému jako Eaglův fenomén¹⁸, dochází, když zvýšení koncentrace antimikrobiální látky vede ke zvýšení počtu mikroorganismů, které přežijí. To může být způsobeno autoantagonizačním účinkem s přidruženým vazebným receptorem (v případě penicilinu např. penicilin vázající proteiny).



Rozlišení

Růst vysoké koncentrace by měl být ignorován, pokud nedojde k růstu všech ostatních koncentrací itraconazolu. V příkladu níže je jamka zvýrazněná černým čtverečkem v místě, kde by měl být zaznamenán výsledek MIC.



V případě jakýchkoli dalších dotazů nebo obav se obraťte na oddělení technické podpory na tel. č.: +44 (0) 1256 694287 | fax: +44 (0) 1256 463388 nebo na jednu z kontaktních e-mailových adres uvedených níže.

Kontaminace a vynechání

Upozorňujeme, že růžová (růstová) jamka mezi modrými (bez růstu) jamkami může svědčit o kontaminaci. Subkultivujte obsah jamky ke zjištění příčiny.

Modrá jamka v řadě růžových růstových jamek znamená „vynechání“ a měla by být ignorována. Hodnota MIC by se měla odečítat nad případnými vynechanými jamkami. Pokud je vynechána více než jedna jamka, antimykotikum by nemělo být hlášeno.

Postupy kontroly kvality

Frekvence testování kontroly kvality by měla být prováděna v souladu s místními směrnici.¹

Ke kontrole čistoty kultivujte inokulum na vhodném médiu. Jestliže odhalíte přítomnost směsné kultury, výsledky testu nelze použít.

Součástí všech destiček Sensititre jsou jamky pro pozitivní kontrolu. Pokud v některé z jamek pro pozitivní kontrolu není patrný růst buněk, testy jsou neplatné.

Kontrolní materiály/kmeny

Pro kontrolu kvality uživatelem se doporučují následující kultury z American Type Culture Collection (ATCCTM):

- *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) - ATCC 6258
- *Candida parapsilosis* - ATCC 22019

Klinické výsledky by **neměly** být hlášeny, pokud výsledky kontroly kvality nejsou v očekávaném rozmezí.

Inokulace, odečítání a interpretace destiček Sensititre YeastOne při testování pro kontrolu kvality uživatelem by měly být prováděny tak, jak je popsáno v předchozí části.

Tabulka 5. Doporučené 24hodinové a 48hodinové limity MIC pro dva kmeny pro kontrolu kvality podle mikrodilučního bujónu CLSI M27². Rozsahy, které se liší od publikovaných rozsahů kontroly kvality nebo je doplňují, jsou podtrženy.

Antimykotikum	<i>Issatchenkia orientalis</i> ATCC6258 TM		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019 TM	
	24 hodin	48 hodin	24 hodin	48 hodin
5-flucytosin	4–16	8–32	<u>0,12–0,5*</u>	0,12–0,5
Amfotericin B	0,5–2	1–4	0,25–2	0,5–4
Anidulafungin	0,03–0,12	-	0,25–2	-
Kaspofungin	0,12–1	0,25–1	0,25–1	0,5–4
Flukonazol	8–64	16–128	0,5–4	2–8
Itrakonazol	0,12–1	0,25–1	0,06–0,5	0,06–0,5
Mikafungin	0,06–0,5*	0,12–0,5	0,5–2	0,5–4
Posakonazol	0,06–0,5	0,12–1	0,03–0,25	0,06–0,25
Vorikonazol	0,06–0,5	0,12–1	0,015–0,12	0,03–0,25
Isavukonazol	0,06–0,5	0,12–1,0*	0,015–0,06	0,03–0,12*

* **Řada Sensititre** (interně generovaná řada pro kontrolu kvality, generovaná v okamžiku vývoje produktu pomocí metodiky CLSI M27)

Očekávané hodnoty QC jsou uvedeny v CLSI M27M44S¹⁹.

Další informace týkající se interpretace výsledků naleznete v CLSI¹.

Specifické funkční charakteristiky

Panely odečítané ručně jsou navrženy tak, aby poskytovaly srovnatelnou funkčnost jako při použití referenčního postupu CLSI pro mikrobujón. Srovnatelná funkčnost je definována jako > 90% zásadní a kategoriální shoda v rámci dvojitého ředění referenční MIC¹.

Přesnost měření:

Základní shodu při testování QC organismů na destičkách Sensititre lze nalézt v tabulce 6. Zásadní shoda je hlášena, když jsou výsledky v rozmezí 2 jamek (sériové ředění) oproti MIC modelu nebo zmrazenému referenčnímu výsledku.

Tabulka 6: Základní shoda QC organismů na destičkách Sensititre

Antimikrobiální látka	Počet testů	Výsledky ukazující základní shodu
Amfotericin B	126	126 (100 %)
Anidulafungin	154	154 (100 %)
Kaspofungin	32	32 (100 %)
Flukonazol	123	123 (100 %)
5-flucytosin	155	155 (100 %)
Itrakonazol	135	135 (100 %)
Mikafungin	22	22 (100 %)
Posakonazol	32	32 (100 %)
Vorikonazol	40	40 (100 %)
Isavukonazol	144	144 (100 %)

Opakovatelnost a reprodukovatelnost:

Opakované denní testování prováděné ve třech různých časových obdobích je shrnuto v tabulce 7. Opakovatelnost a reprodukovatelnost destiček Sensititre je ≥ 95 % ve srovnání s QC rozsahy CLSI M27M44S nebo interními QC rozsahy Sensititre.

Tabulka 7: Manuální data z destiček Sensititre za tři různá časová období

Antimikrobiální látka	Počet opakování	Výsledky spadají do rozsahu CLSI M27M44S nebo interního rozsahu Sensititre pro QC.
Amfotericin B	67	67 (100 %)
Anidulafungin	35	35 (100 %)
Kaspofungin	112	112 (100 %)
Flukonazol	53	53 (100 %)
5-flucytosin	35	35 (100 %)
Itrakonazol	35	35 (100 %)
Mikafungin	30	30 (100 %)
Posakonazol	96	96 (100 %)
Vorikonazol	35	35 (100 %)
Isavukonazol	144	144 (100 %)

Analytická citlivost

Manuální testy citlivosti prováděné s QC organismy na destičkách Sensititre vykazují $\geq 95\%$ shodu s rozsahy QC CLSI M27M44S nebo interními rozsahy QC Sensititre.

Tabulka 8: Výsledky manuálního testování citlivosti prováděného na QC organismech.

Antimikrobiální látka	Počet testů	Výsledky spadají do rozsahu CLSI M27M44S nebo interního rozsahu Sensititre pro QC.
Amfotericin B	126	126 (100 %)
Anidulafungin	154	154 (100 %)
Kaspofungin	112	112 (100 %)
Flukonazol	123	123 (100 %)
5-flucytosin	155	155 (100 %)
Itrakonazol	135	135 (100 %)
Mikafungin	100	100 (100 %)
Posakonazol	112	112 (100 %)
Vorikonazol	115	115 (100 %)
Isavukonazol	144	144 (100 %)

Analytická specifita

Analytická specifita není pro tento prostředek relevantní, protože se používá čistá kultura a nevyskytuje se zkřížená reaktivita a/nebo zdroje endogenní/exogenní interference.

Mez detekce

Mez detekce pro destičku je 1 log ředění v µg/ml (např. 0,03 – 0,06). Cokoli mezi těmito koncentracemi by nebylo detekováno.

Tabulka 9: Klinické charakteristiky funkčnosti destiček Sensititre obsahujících následující antimykotika, hodnocené pomocí referenční metody CLSI a hraniční hodnoty.

Antimikrobiální látka	Počet testovaných izolátů	Kategoriální shoda CLSI	Kategoriální shoda (%) CLSI	VME %	ME %	mE %
Amfotericin B	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*
Anidulafungin ^a	449	424	99,3 %	0,0	0,0	3,0
Kaspofungin	573	572	99,8 %	0,0	1,0	0,0
Flukonazol ^a	1019	667	92,6 %	1,89	0,92	3,53
5-flucytosin	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*
Itrakonazol	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*
Mikafungin	315	314	99,7	0,0	0,0	0,3
Posakonazol	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*
Vorikonazol ^a	298	204	94,7 %	5,0 ^b	0,0	4,7
Isavukonazol	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*	Neplatné*

*Breakpointy (BP) CLSI M60 (nyní M27M44S) 2. edice již nejsou k dispozici.

a – Vzhledem k nízké funkčnosti flukonazolu, vorikonazolu a anidulafunginu u *C. tropicalis* by měly být izoláty *C. tropicalis* testovány alternativní metodou.

b – U *C. albicans* došlo k jedné velmi závažné chybě, která byla považována za související s nesprávnou interpretací referenční metody kvůli koncovým bodům, a byla proto považována za náhodnou chybu.

c – Charakteristiky funkčnosti uvedených antimykotik byly hodnoceny pouze podle regulačních kritérií CLSI. Dostupné údaje byly nedostatečné nebo nekompatibilní pro určení souladu s metodou EUCAST.

Další zdroj klinických údajů byl také získán v letech 2015-2021 s charakteristikami funkčnosti popsanými v tabulce 10 níže. Původně byl využit za účelem posouzení antimykotik na destičkách Sensititre podle metodiky EUCAST, avšak změny pokynů a metodik EUCAST týkajících se destiček s tkáněmi vedly k tomu, že údaje byly pro tento účel nekompatibilní. Získaná data byla také vyhodnocena pomocí metodiky CLSI a referenční metody. Toto hodnocení je uvedeno níže.

Tabulka 10. Klinické charakteristiky funkčnosti destiček Sensititre obsahujících následující antimykotika, hodnocené mezi lety 2015 a 2021 pomocí referenční metody CLSI a hraniční hodnoty (breakpointů).

Antimikrobiální látky	Počet testovaných izolátů	Kategoriální shoda	Kategoriální shoda (%)	Zásadní shoda	Zásadní shoda (%)
Anidulafungin ^a	1150	940	95,6	1072	93,2
Kaspo fungin	499	401	93,9	493	98,8
Flukonazol ^a	1150	727	91,9	1116	97,0
5-flucytosin	498	Neplatné*	Neplatné*	493	99,0
Itrakonazol	1148	Neplatné*	Neplatné*	1082	94,3
Mikafungin	651	545	98,0	646	99,2
Posakonazol	499	Neplatné*	Neplatné*	481	96,4
Vorikonazol ^a	1151	674	89,2 ^b	1112	96,6
Isavukonazol	499	Neplatné*	Neplatné*	484	97,0

*Breakpointy (BP) CLSI M60 (nyní M27M44S) 2. edice již nejsou k dispozici.

a – Vzhledem k nízké funkčnosti flukonazolu, vorikonazolu a anidulafunginu u *C. tropicalis* by měly být izoláty *C. tropicalis* testovány alternativní metodou.

b – Kategoriální shoda pro vorikonazol spadá těsně pod kritérium >90 % CLSI kvůli špatné funkčnosti izolátů *C. tropicalis* (74,3 %), což snižuje celkovou CA pro toto antimykotikum. Vzhledem k tomu, že pro izoláty *C. tropicalis* platí omezení pro testování vorikonazolem, může být tato CA odůvodněná.

Kontaktní informace výrobce

Nejnovější informace můžete získat na stránkách www.trekds.com/techinfo nebo od oddělení technické podpory pro mikrobiologii společnosti Thermo Fisher Scientific.



TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19,
Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex, RH19 1XZ,
Spojené království
Tel.: +44- 13423-18777

 Znak ATCC Licensed Derivative®, textová značka ATCC Licensed Derivative® a katalogové značky ATCC jsou ochranné známky společnosti ATCC. Společnost Thermo Fisher Scientific Inc. je oprávněna používat tyto ochranné známky a prodávat produkty odvozené z kultur ATCC®.

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. Všechna práva vyhrazena. ATCC je ochranná známka společnosti ATCC. Všechny další ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Thermo Fisher Scientific Inc. a jejích dceřiných společností.



E-mailové adresy oddělení technické podpory

Rakousko	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgie	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Česká republika	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Dánsko	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Francie	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finsko	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Německo	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Itálie	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Nizozemsko	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norsko	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Španělsko	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Švédsko	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Oddělení technické podpory pro Velkou Británii	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

Slovníček symbolů

Symbol/označení	Význam
	Výrobce
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	Omezení teploty (skladovací teplota)
	Číslo šarže
	Katalogové číslo
	Nepoužívejte opakovaně
	Přečtěte si návod k použití
	Obsahuje dostatečné množství pro 10 testů
	Datum použitelnosti
	Doba po otevření
	USA: Upozornění: Federální zákony omezují prodej tohoto prostředku na lékaře nebo na jeho objednávku
	Nepoužívejte, pokud je obal poškozený. Přečtěte si návod k použití.
	Chraňte před slunečním světlem
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství
	Dovozce – označení subjektu, který dováží zdravotnický prostředek do dané lokality. Platí pro Evropskou unii

Made in the
United Kingdom

Vyrobeno ve Spojeném království

Literatura

- (1) CLSI M27. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (2017 or latest edition). CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.
- (2) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric Antifungal Plate with the NCCLS, M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. **37**: 591-595.
- (3) Espinel-Ingroff A *et al.* (2002). Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel for testing voriconazole against Isolates of *Candida* spp., a comparison with the NCCLS M27-A microdilution reference method. *Clinical Microbiology and Infection*. **8**: Suppl 1. Abstract 0125.
- (4) Davey K G *et al.* (1998). Comparison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for in-vitro susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **42**: 439-444.
- (5) Linares M *et al.* (2005). Susceptibility of filamentous fungi to voriconazole tested by two microdilution methods. *Journal of Clinical Microbiology*. **43**: 250-253.
- (6) Kartsonis N *et al.* (2005). Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 3616-3623.
- (7) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of five antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. **50** :113-117.
- (8) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posiconazole and ravuconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 4577-4580.
- (9) Espinel-Ingroff A *et al.* (2004). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the NCCLS, M27-A2 reference method for testing new antifungal agents against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 718- 721.
- (10) Linares M *et al.* (2004). Comparison of two microdilution methods for testing susceptibility of *Candida* spp. to voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 899-902.
- (11) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other Yeasts and Yeast-Like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology* **37**: 591-595.
- (12) Barry A L *et al.* (2000). Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **38**: 3457-3459.
- (13) Canton E *et al.* (2005). Sensititre YeastOne® Caspofungin susceptibility testing of *Candida* clinical isolates: Correlation with results of NCCLS, M27-A2 multicenter study . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 1604 - 1607.
- (14) Holliday N M *et al.* (2007) A reproducibility study with two echinocandins using the Sensititre YeastOne® susceptibility plate. *American Microbiology Abstract* **C-191**.

(15) Torres-Nabona M *et al.* (2007) *In Vitro* activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of Zygomycetes: Comparison of NCCLS, M38-A, Sensititre_YeastOne® and the Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **51**: 1126 -1129.

(16) Espinel-Infgróff A (2006). Comparison of three commercial assays and a modified disk diffusion assay with two broth microdilution reference assays for testing Zygomycetes, *Aspergillus* spp, *Candida* spp, and *Cryptococcus neoformans* with posaconazole and Amphotericin B. *Journal of Clinical Microbiology* **44**: 3616-3622

(17) Alexander B D *et al.* (2007). Comparative evaluation of Etest and Sensititre YeastOne® panels against the Clinical Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **45**: 698-706.

(18) Eagle H. (1948). A paradoxical zone phenomenon in the bactericidal action of penicillin *in vitro*. *Science*, 1948; 107: 44-45

(19) CLSI M27M44S. Performance Standards For Antifungal Susceptibility Testing Of Yeasts – 3rd Edition. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.



Οδηγίες χρήσης

**Πλάκες ευαισθησίας *Sensititre™ YeastOne™ YO10*
& *ITAMYUCC* της Thermo Scientific**

Sensititre™ YeastOne™ YO10 & ITAMYUCC

Ημερομηνία αναθεώρησης:

Αύγουστος 2024

ΠΛΑΚΕΣ ΕΥΑΙΣΘΗΣΙΑΣ SENSITITRE YEASTONE – YO10 & ITAMYUCC THERMO SCIENTIFIC

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση

Οι πλάκες Sensititre είναι πλάκες μικροτιτλοδότησης 96 βοθρίων, διαθέσιμες τόσο σε τυπική όσο και σε προσαρμοσμένη μορφή. Πολλοί αντιμικροβιακοί/αντιμυκητιασικοί παράγοντες είναι διαθέσιμοι σε διάφορα εύρη αραίωσης (σε μεγάλη ποικιλία μορφών πλάκας). Οι πλάκες Sensititre YeastOne χρησιμοποιούνται για τον προσδιορισμό της MIC (ελάχιστη ανασταλτική συγκέντρωση).

Μετά τον ενοφθαλμισμό με ένα τυποποιημένο εναιώρημα μικροοργανισμών, η πλάκα καλύπτεται με αυτοκόλλητη σφράγιση και επωάζεται στους 35°C για 24 ώρες. Οι MIC για τους μικροοργανισμούς που εξετάζονται ερμηνεύονται οπτικά σε σχέση με μια χρωματομετρική αλλαγή, προκειμένου να προσδιοριστεί η κατώτατη συγκέντρωση αντιμυκητιασικού παράγοντα που αναστέλλει την ανάπτυξη του απομονωμένου στελέχους.

Το παρόν έγγραφο οδηγιών χρήσης (IFU) αναφέρεται σε δύο πλάκες της σειράς Sensititre YeastOne, τις YO10 και ITAMYUCC, οι οποίες θα αναφέρονται ως «η πλάκα». Εκτός εάν αναφέρεται ρητά, όλες οι πληροφορίες ισχύουν και για τις δύο πλάκες.

Προβλεπόμενη χρήση

Οι YO10 και ITAMYUCC είναι *in vitro* διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα που προορίζονται για χρήση με καλλιεργημένα δείγματα από ασθενείς για τους οποίους υπάρχει υποψία λοίμωξης από ζυμομύκητα.

Η πλάκα είναι μια ημιποσοτική δοκιμή για τον έλεγχο της ευαισθησίας κλινικά απομονωμένων στελεχών *Candida spp.* Χρησιμοποιείται σε μια διαγνωστική ροή εργασιών για να βοηθήσει τους κλινικούς στον προσδιορισμό των δυνητικών επιλογών θεραπείας για ασθενείς για τους οποίους υπάρχει υποψία λοίμωξης από ζυμομύκητα. Το ιατροτεχνολογικό προϊόν δεν είναι αυτοματοποιημένο και απαιτείται η χρήση καθαρής καλλιέργειας που έχει αναπτυχθεί σε άγαρ. Αυτό το ιατροτεχνολογικό προϊόν προορίζεται αποκλειστικά για επαγγελματική χρήση και δεν αποτελεί συνοδευτικό διαγνωστικό μέσο.

Αρχή της μεθόδου

Το κλινικό δείγμα, αφού απομονωθεί και καθαριστεί από το δείγμα του ασθενούς, ενοφθαλμίζεται σε γνωστή πυκνότητα κυττάρων σε μέσο ανάπτυξης και επωάζεται για 24 ώρες παρουσία κατάλληλου εύρους συγκεντρώσεων αντιμυκητιασικών παραγόντων. Η κατώτατη συγκέντρωση του εύρους διαδοχικής αραίωσης (log dilution) που δεν εμφανίζει αλλαγή χρώματος θεωρείται η MIC. Αυτή η MIC μπορεί στη συνέχεια να συνδεθεί με μια θετική θεραπευτική αγωγή, χρησιμοποιώντας εγκεκριμένες από τις ρυθμιστικές αρχές συγκεντρώσεις των ορίων ευαισθησίας, με βάση την ταυτοποίηση του οργανισμού και τη θέση της λοίμωξης στον οργανισμό. Ο προβλεπόμενος χρήστης μπορεί στη συνέχεια να χρησιμοποιήσει αυτές τις πληροφορίες για τη λήψη απόφασης ως προς τη βέλτιστη ενέργεια με βάση αυτές και άλλες ειδικές πληροφορίες για τον ασθενή.

Υλικά που παρέχονται

- 10 x πλάκες Sensititre
- 10 x αυτοκόλλητες ταινίες σφράγισης

Διατάξεις πλάκας

Ανατρέξτε στις εικόνες 1 και 2 για την τοποθέτηση και τη συγκέντρωση (μg/ml) του αντιμικροβιακού παράγοντα. Για τις συντομογραφίες φαρμάκων ανατρέξτε στον πίνακα 1.

Εικόνα 1: Διάταξη και συγκεντρώσεις φαρμάκων στην Sensititre YO10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
Γ	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
Δ	FC 0,06	FC 0,12	FC 0,25	FC 0,5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
ΣΤ	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
Z	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Εικόνα 2: Διάταξη και συγκεντρώσεις φαρμάκων στην Sensititre ITAMYUCC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
Γ	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
Δ	ISA 0,008	ISA 0,015	ISA 0,03	ISA 0,06	ISA 0,12	ISA 0,25	ISA 0,5	ISA 1	ISA 2	ISA 4	ISA 8	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
ΣΤ	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
Z	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Πίνακας 1: Συντομογραφίες των αντιμικροβιακών παραγόντων που χρησιμοποιούνται στις YO10 και ITAMYUCC

Συντομογραφία	Αντιμικροβιακοί παράγοντες
POS	Θετικός μάρτυρας
MF	Μικαφουγκίνη
CAS	Κασποφουνγκίνη
FC	5-Φλουκυτοσίνη
PZ	Ποσακοναζόλη
VOR	Βορικοναζόλη
IZ	Ιτρακοναζόλη
FZ	Φλουκοναζόλη
AND	Ανιδουλαφουνγκίνη
AB	Αμφοτερικίνη B
ISA	Ισαβουκοναζόλη

Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

Ανατρέξτε στον πίνακα 2 για τον κατάλογο των υλικών που δεν παρέχονται μαζί με το ιατροτεχνολογικό προϊόν αλλά απαιτούνται για τη σωστή λειτουργία των πλακών Sensititre YeastOne YO10 και ITAMYUCC.

Πίνακας 2: Περιγραφή υλικών που δεν παρέχονται μαζί με τις πλάκες Sensititre YeastOne

Εξάρτημα	Κωδικός προϊόντος	Περιγραφή
Θρεπτικό μέσο Sensititre YeastOne	Y3462	11 ml Θρεπτικό μέσο ζυμομύκητα για χρήση με πλάκες Sensititre YeastOne
Απιονισμένο νερό Sensititre	T3339	5 ml απιονισμένο νερό για χρήση με πλάκες Sensititre
Πρότυπο διάλυμα θολερότητας 0,5 McFarland	E1041	Πρότυπο διάλυμα που χρησιμοποιείται για την παρασκευή βακτηριακών εναιωρημάτων
Βακτηριολογικός κρίκος	Δ/Ι	Κρίκος ενοφθαλμισμού για χρήση σε βακτηριακή καλλιέργεια και προετοιμασία
Πιπέτα 20 μl και αναλώσιμα ρύγχη	Δ/Ι	Εργαστηριακό εργαλείο που χρησιμοποιείται συνήθως για τη μεταφορά και τη διανομή μετρημένου όγκου υγρού μέσα σε αναλώσιμο ρύγχος
Αποστειρωμένος περιέκτης ενοφθαλμίσματος	Δ/Ι	Αποστειρωμένος περιέκτης για τη διατήρηση μικροβιακών εναιωρημάτων
Πιπέτα 100 μl και αναλώσιμα ρύγχη	Δ/Ι	Εργαστηριακό εργαλείο που χρησιμοποιείται συνήθως για τη μεταφορά και τη διανομή μετρημένου όγκου υγρού μέσα σε αναλώσιμο ρύγχος

Προαιρετικά όργανα που δεν παρέχονται

Παρατίθενται παρακάτω όργανα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τις πλάκες Sensititre YeastOne, αλλά δεν είναι απαραίτητα:

Πίνακας 3: Προαιρετικά όργανα που μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τις πλάκες Sensititre YeastOne

Εξάρτημα	Κωδικός προϊόντος	Περιγραφή
Νεφελόμετρο Sensititre	V3011	Το νεφελόμετρο Sensititre χρησιμοποιείται για την τυποποίηση της πυκνότητας ενοφθαλμίσματος ενός εναιωρήματος μυκήτων. Το φως από μια εξαιρετικά φωτεινή δίοδο εκπομπής φωτός (LED) σκεδάζεται από αιωρούμενα σωματίδια ή μικροβιακά κύτταρα στο εναιώρημα και ανιχνεύεται από μια φωτοδίοδο. Η ποσότητα του σκεδαζόμενου φωτός συγκρίνεται με μια τιμή αναφοράς που λαμβάνεται μέσω βαθμονόμησης του Νεφελόμετρου με πρότυπο διάλυμα θολερότητας 0,5 McFarland
Thermo Scientific Sensititre AIM™ (αυτοματοποιημένο σύστημα εφαρμογής ενοφθαλμισμού)	V3020	Το Sensititre AIM είναι ένα όργανο ελεγχόμενο από μικροεπεξεργαστή που παρέχει ταχέως ενοφθαλμισμό σε πολλαπλάσια των 50 μl σε πλάκα μικροπιλοδότησης 96 βοθρίων.
Δοσιμετρικές κεφαλές Thermo Scientific Sensititre	E3010	Αναλώσιμο που χρησιμοποιείται με το AIM για την παροχή ενοφθαλμίσματος σε κάθε βοθρίο της πλάκας Sensititre.
Μη αυτόματο σύστημα προβολής	V4007	Μη αυτόματο σύστημα προβολής με κάτοπτρα για την πραγματοποίηση απλών οπτικών ερμηνειών των πλακών Sensititre
Ψηφιακό σύστημα προβολής MIC Sensititre Vizion™ της Thermo Scientific	V2021	Το Vizion είναι ένα εργαλείο που λαμβάνει μια ψηφιακή εικόνα μιας πλάκας ευαισθησίας Sensititre και την αποστέλλει στο λογισμικό SWIN, ώστε τα αποτελέσματα να εμφανιστούν σε έναν υπολογιστή SWIN και να μπορέσουν να ερμηνευτούν από τον χρήστη. Το Vizion

		συνδέεται μέσω ενός παρεχόμενου καλωδίου σε θύρα USB ενός υπολογιστή (PC) που εκτελεί το λογισμικό SWIN.
--	--	--

Φύλαξη, διάρκεια ζωής και συνθήκες χειρισμού

Οι πλάκες θα πρέπει να φυλάσσονται σε θερμοκρασία δωματίου (15-25°C) μακριά από άμεσο ηλιακό φως και άμεση θερμότητα. Κάθε πλάκα είναι συσκευασμένη σε φύλλο αλουμινίου με ξηραντική γέλη πυριτίου. Μη χρησιμοποιείτε την πλάκα εάν (1) το χρώμα του ξηραντικού δεν είναι πορτοκαλί, (2) η ημερομηνία λήξης έχει παρέλθει ή (3) η θήκη από φύλλο αλουμινίου έχει υποστεί ζημιά. Η πλάκα πρέπει να ενοφθαλμίζεται εντός 5 ωρών από την αφαίρεση από τη συσκευασία της.

Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Τα αποτελέσματα θα πρέπει να χρησιμοποιούνται επικουρικά για την επιλογή του καταλληλότερου φαρμάκου για τη θεραπεία. Ο χειρισμός του συστήματος θα πρέπει να γίνεται μόνο από εκπαιδευμένο προσωπικό. Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται κατάλληλες μέθοδοι χειρισμού και απόρριψης των μικροοργανισμών. Μη χρησιμοποιείτε το ιατροτεχνολογικό προϊόν εάν η συσκευασία από φύλλο αλουμινίου έχει υποστεί ζημιά ή το ξηραντικό δεν είναι πορτοκαλί.

Κατά την εφαρμογή της αυτοκόλλητης σφράγισης, αποφεύγετε τη δημιουργία πτυχώσεων, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε εσφαλμένο αποτέλεσμα ή «παραλείψεις βοθρίων». Ένα μπλε βοθρίο σε μια σειρά ροζ βοθρίων ανάπτυξης υποδεικνύει παράλειψη/εσφαλμένο αποτέλεσμα και θα πρέπει να αγνοείται. Η ερμηνεία της MIC θα πρέπει να γίνεται χωρίς να λαμβάνονται υπόψη τυχόν βοθρία που έχουν παραλειφθεί. Εάν υπάρχουν περισσότερα από ένα βοθρία που έχουν παραλειφθεί, ο αντιμικητιασικός παράγοντας δεν θα πρέπει να αναφέρεται.

Ακολουθείτε τις διαδικασίες επώασης που αναφέρονται παρακάτω, καθώς θερμοκρασίες επώασης άνω των 35°C μπορεί να επηρεάσουν την απόδοση.

Δεν υπάρχουν εύλογα προβλέψιμες εξωτερικές επιδράσεις που θα επηρεάσουν την ορθή λειτουργία αυτής της συσκευής κατά τη συνήθη χρήση. Η συσκευή είναι ευαίσθητη στην υγρασία και τη θερμοκρασία και θα πρέπει να χρησιμοποιείται σύμφωνα με τις κατάλληλες συνθήκες φύλαξης και χειρισμού που αναφέρονται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης και στη συσκευασία.

Υπάρχει κάποιος υπολειπόμενος κίνδυνος έκθεσης του χρήστη ή του περιβάλλοντος σε τοξικά/επικίνδυνα/μολυσματικά υλικά. Αυτοί οι κίνδυνοι περιορίζονται όταν το ιατροτεχνολογικό προϊόν χρησιμοποιείται από εκπαιδευμένους κλινικούς επαγγελματίες, οι οποίοι ακολουθούν τις καθιερωμένες προφυλάξεις για τους μικροβιακούς κινδύνους και τις προειδοποιήσεις που αναφέρονται στο δελτίο δεδομένων ασφαλείας (SDS) και στις οδηγίες χρήσης.

Το ιατροτεχνολογικό προϊόν δεν περιέχει CMR, ουσίες που διαταράσσουν το ενδοκρινικό σύστημα ή υλικά που ενδέχεται να προκαλέσουν αλλεργική αντίδραση υπό κανονική χρήση.

Στο ιατροτεχνολογικό προϊόν δεν περιλαμβάνεται κανένα μολυσματικό υλικό. Οι καλλιέργειες, οι περιέκτες και άλλα μολυσμένα υλικά πρέπει να αποστειρώνονται μετά από τη χρήση σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες για τον χειρισμό και την απόρριψη βιολογικά επικίνδυνων αποβλήτων.

Ανατρέξτε στο SDS που είναι διαθέσιμο στη διεύθυνση www.trekds.com/techinfo για τον ασφαλή χειρισμό και την απόρριψη του προϊόντος.

Παρεμβαλλόμενες ουσίες και περιορισμοί

1. Οι πλάκες Sensititre YeastOne YO10 και ITAMYUCC προορίζονται για χρήση μόνο με είδη *Candida*. Δεν προορίζονται για είδη *Cryptococcus*, είδη *Aspergillus* και διάφορα είδη ταχέως αναπτυσσόμενων ζυμομυκήτων. Δεν προορίζονται για απαιτητικούς ή αργά αναπτυσσόμενους ζυμομύκητες, όπως τα είδη *Histoplasma* ή *Blastomyces*, και νηματοειδείς μύκητες.
2. Λόγω της χαμηλής απόδοσης της φλουκοναζόλης, της ανιδοουλαφουνγκίνης και της βορικοναζόλης με το *C. tropicalis*, τα απομονωμένα στελέχη του *C. tropicalis* θα πρέπει να ελέγχονται με μια εναλλακτική μέθοδο. Αξιολογήθηκε η σύγκριση μεταξύ του συστήματος Sensititre YeastOne στις 24 ώρες και της μεθόδου αναφοράς CLSI στις 48 ώρες. Ωστόσο, λόγω της δυσκολίας συσχέτισης των τελικών σημείων σταδιακής μείωσης της ανάπτυξης μικροοργανισμών (*C. albicans*) στις 48 ώρες επώασης, παρατηρήθηκαν υψηλά

ποσοστά σφάλματος. Τα επίσημα πρότυπα M27-Ed4 2017 του CLSI συνιστούν ότι οι ερμηνείες θα πρέπει να πραγματοποιούνται στις 24 ώρες για κλινικά απομονωμένα στελέχη και στελέχη QC.

3. Η εξέταση μυκήτων και αντιμυκητιασικών παραγόντων είναι από τη φύση της λιγότερο ακριβής από την εξέταση βακτηρίων.
4. Για πρόσθετες οδηγίες, ανατρέξτε στο πρότυπο M27 του CLSI για τις ευαισθησίες των ζυμομυκήτων σε αντιμυκητιασικούς παράγοντες.
5. Ο δείκτης του τελικού σημείου είναι η αλλαγή χρώματος, όχι η θολερότητα. Αυτό το χαρακτηριστικό βοηθά στην αντιμετώπιση των ανησυχιών σχετικά με την ερμηνεία ορισμένων ειδών *Candida* λόγω της «σταδιακής μείωσης της ανάπτυξης». Η σταδιακή μείωση της ανάπτυξης παρατηρείται συχνότερα με άλλα απομονωμένα στελέχη, εκτός από αυτά του αίματος και άλλων στείων σωματικών υγρών.
6. Να μη γίνεται ερμηνεία στις 24 ώρες εάν το βοθρίο μάρτυρα δεν έχει υποστεί πλήρη αλλαγή χρώματος από μπλε σε ροζ.
7. Να χρησιμοποιείται μόνο με εγκεκριμένο για το σύστημα Sensititre υγρό θρεπτικό μέσο ενοφθαλμίσματος ευαισθησίας ζυμομυκήτων. Η χρήση άλλων υγρών θρεπτικών μέσων μπορεί να οδηγήσει σε σφάλμα.
8. Όπως ισχύει για κάθε μέθοδο δοκιμών ευαισθησίας *in vitro*, τα αποτελέσματα των δοκιμών θα πρέπει να συσχετίζονται με την κλινική ανταπόκριση του ασθενούς στη συνταγογραφούμενη θεραπεία.
9. Η συσχέτιση της MIC για την κασποφουνγκίνη στην έκβαση της θεραπείας μετά τη χρήση κασποφουνγκίνης δεν έχει τεκμηριωθεί πλήρως.⁹.
10. Για την αναφορά των αποτελεσμάτων με τα προϊόντα Sensititre πρέπει να χρησιμοποιούνται μόνο όργανα που υποστηρίζονται από το σύστημα Sensititre, δηλαδή ένα απλό σύστημα προβολής με κάτοπτρα, το Sensititre Vizion. Οποιοδήποτε άλλο σύστημα χρησιμοποιηθεί δεν θα υποστηρίζεται.
11. Το διάλυμα ιτραконаζόλης μπορεί περιστασιακά να εξαντληθεί σε συγκεντρώσεις ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$. Αυτό μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση ανάπτυξης στο προσβεβλημένο βοθρίο και την αλλαγή του χρώματος σε ροζ.

Περιορισμοί για αντιμυκητιασικούς παράγοντες

Αντιμυκητιασικοί παράγοντες	Μικροοργανισμός	Περιορισμός
Κασποφουνγκίνη	<i>Candida</i> spp. εξαιρουμένου του <i>Candida glabrata</i>	Η ικανότητα της πλάκας Sensititre που περιέχει κασποφουνγκίνη να προσδιορίζει ανθεκτικά στελέχη δεν έχει τεκμηριωθεί επί του παρόντος λόγω της δοκιμής σε ανεπαρκή αριθμό ανθεκτικών απομονωμένων στελεχών.
Φλουконаζόλη	<i>Candida glabrata</i>	Η ικανότητα της πλάκας Sensititre που περιέχει φλουконаζόλη να προσδιορίζει ανθεκτικά στελέχη δεν έχει τεκμηριωθεί επί του παρόντος λόγω της δοκιμής σε ανεπαρκή αριθμό ανθεκτικών απομονωμένων στελεχών.
Κασποφουνγκίνη	<i>Candida tropicalis</i> και <i>Candida albicans</i>	Οι τιμές MIC με το Σύστημα Ευαισθησίας Sensititre YeastOne με κασποφουνγκίνη στο εύρος αραίωσης 0,015-16 µg/mL έτειναν να είναι απόλυτα σύμφωνες ή υψηλότερες κατά τουλάχιστον μία αραίωση διπλασιασμού για τα <i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> και <i>C. glabrata</i> σε σύγκριση με τη μέθοδο αναφοράς μικροαραίωσης θρεπτικού μέσου του CLSI.
Ανιδουλαφουνγκίνη Φλουконаζόλη Βορικοναζόλη	<i>Candida tropicalis</i>	Λόγω της ανεπαρκούς απόδοσης του συστήματος ευαισθησίας Sensititre YeastOne με ανιδουλαφουνγκίνη, φλουконаζόλη και βορικοναζόλη στη μελέτη σύγκρισης, τα απομονωμένα στελέχη του <i>C. tropicalis</i> θα πρέπει να ελέγχονται με μια εναλλακτική μέθοδο.
Κασποφουνγκίνη	<i>Candida glabrata</i>	Λόγω κατηγορηματικής συμφωνίας κάτω του 90% με το σύστημα ευαισθησίας Sensititre YeastOne σε σύγκριση με τη μέθοδο μικροαραίωσης με αντιμυκητιασικό θρεπτικό μέσο του CLSI που προκαλείται από την εμφάνιση κατηγορικών σφαλμάτων και για να αποφύγετε πιθανά ψευδή αποτελέσματα ευαισθησίας, εκτελέστε μια εναλλακτική μέθοδο δοκιμής πριν από την αναφορά αποτελεσμάτων για την κασποφουνγκίνη και το <i>C. glabrata</i> όταν η MIC είναι $\leq 0,12$ µg/ml.

Ιτρακοναζόλη	<i>Candida lusitanae</i>	Λόγω της χαμηλής απόδοσης (ΕΑ <90%) της ιτρακοναζόλης με το <i>C. lusitanae</i> , τα απομονωμένα στελέχη του <i>C. lusitanae</i> θα πρέπει να ελέγχονται με μια εναλλακτική μέθοδο.
--------------	--------------------------	---

Σοβαρά συμβάντα

Κάθε σοβαρό συμβάν που έχει προκύψει σε σχέση με το ιατροτεχνολογικό προϊόν θα πρέπει να αναφέρεται στον κατασκευαστή και στη σχετική ρυθμιστική αρχή του κράτους στο οποίο είναι εγκατεστημένος ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

Χειρισμός και προετοιμασία του δείγματος

Τα δείγματα θα πρέπει να συλλέγονται, να μεταφέρονται, να φυλάσσονται και να τοποθετούνται σε πλάκες με πρωτογενές μέσο απομόνωσης, χρησιμοποιώντας τυπικές διαδικασίες¹.

Διαδικασία ενοφθαλμισμού

Αφήνετε όλα τα θρεπτικά μέσα να φτάσουν σε θερμοκρασία δωματίου πριν από τη χρήση. Οι πλάκες θα πρέπει να ενοφθαλμίζονται εντός 5 ωρών από την αφαίρεση από τη συσκευασία τους. Συνιστάται τελική πυκνότητα μικροοργανισμών περίπου $1,5 - 8 \times 10^3$ CFU/ml. Τα εγκεκριμένα για το σύστημα Sensititre θρεπτικά μέσα έχουν ελεγχθεί ως προς την απόδοση για χρήση με το σύστημα Sensititre. Το σύστημα Sensititre YeastOne είναι επί του παρόντος κατάλληλο μόνο για προσδιορισμούς της MIC με χρήση των μεθόδων και των προτύπων αναφοράς του CLSI.

Τα βήματα 1 και 2 πρέπει να ολοκληρώνονται εντός 15 λεπτών.

1. Συλλέξτε αρκετές καλά απομονωμένες αποικίες διαμέτρου >1 mm από μια καθαρή καλλιέργεια 24 ωρών (άγαρ δεξτρόζης Sabouraud) του απομονωμένου στελέχους του ζυμομύκητα και γαλακτωματοποιήστε σε απιονισμένο νερό. Αναμίξτε καλά, διασφαλίζοντας ότι το εναιώρημα είναι ομοιογενές και περιδινήστε εάν απαιτείται. Εάν παρουσιαστούν συσσωματώματα, αφήστε το εναιώρημα να κατακαθίσει προτού ρυθμίσετε την πυκνότητα. Ρυθμίστε σύμφωνα με το πρότυπο διάλυμα 0,5 McFarland οπτικά ή με νεφελόμετρο Sensititre.
2. Μεταφέρετε 20 μl του εναιωρήματος σε 11 ml θρεπτικού μέσου Sensititre YeastOne για να προκύψει ένα τελικό ενοφθάλμισμα $1,5 - 8 \times 10^3$ CFU/ml.
3. Μεταφέρετε 100 μl του τελικού εναιωρήματος στην πλάκα Sensititre YeastOne εντός 15 λεπτών από την ολοκλήρωση του βήματος 2 χρησιμοποιώντας ένα από τα παρακάτω:
 - a. **Sensititre AIM** - Αντικαταστήστε το πώμα του σωληναρίου με μια δοσιμετρική κεφαλή Sensititre μίας χρήσης και ενοφθαλμίστε την πλάκα σύμφωνα με το εγχειρίδιο χρήσης του Sensititre AIM. Αφαιρέστε τον συνδυασμό δοκιμαστικού σωληναρίου/δοσιμετρικής κεφαλής από το σύστημα Sensititre AIM εντός 30 δευτερολέπτων από τη χορήγηση δόσης στην πλάκα και αποθηκεύστε σε κατάλληλη βάση στήριξης σε ανεστραμμένη θέση ή απορρίψτε.
 - b. **Μη αυτόματη χρήση πιπέτας** – Εναποθέστε το θρεπτικό μέσο σε αποστειρωμένο δισκίο ενοφθαλμισμού και ενοφθαλμίστε την πλάκα, χρησιμοποιώντας κατάλληλη πιπέτα.
4. Θα πρέπει να γίνεται έλεγχος του αριθμού των αποικιών με αφαίρεση 10 μl από το βοηθίο θετικού μάρτυρα και επίστρωση της τοποθέτησης σε πλάκα στο άγαρ δεξτρόζης Sabouraud (SDA). Ένα σωστό ενοφθάλμισμα θα δημιουργήσει 15–80 αποικίες.
5. Καλύψτε όλα τα βοηθία με την αυτοκόλλητη ταινία σφράγισης. Αποφύγετε τις πτυχώσεις κατά την εφαρμογή της αυτοκόλλητης σφράγισης.

Επώαση

Μετά τον ενοφθαλμισμό, επώαστε τις πλάκες σε θερμοκρασία 35 °C σε επωαστήρα που δεν χρησιμοποιεί CO₂ για 24 έως 25 ώρες. Θερμοκρασίες επώασης άνω των 35°C μπορεί να επηρεάσουν την απόδοση.

Ανάγνωση αποτελεσμάτων και υπολογισμός αναλυτικού αποτελέσματος

Η ανάγνωση των πλακών μπορεί να γίνει οπτικά υπό φυσιολογικό φωτισμό εργαστηρίου, με χρήση μη αυτόματου συστήματος προβολής με κάτοπτρα ή χρησιμοποιώντας το σύστημα Sensititre Vizion (για πρόσθετες πληροφορίες ανατρέξτε στο εγχειρίδιο χρήσης του συστήματος Sensititre Vizion).

Η ανάπτυξη ζυμομυκήτων στα αντιμυκητιασικά διαλύματα θα γίνεται εμφανής ως αλλαγή του χρώματος στον χρωματομετρικό δείκτη ανάπτυξης από μπλε (αρνητικό) σε ροζ (θετικό). Ορισμένα είδη ζυμομυκήτων μπορεί να μη μετατρέψουν τον δείκτη εντελώς σε ροζ, αλλά να εμφανίσουν ένα ενδιάμεσο μοβ χρώμα. Ορισμένοι μικροοργανισμοί μπορεί να παρουσιάζουν μωβ χρωματισμό με τη φλουκοναζόλη, την ιτρακοναζόλη, την κετοκοναζόλη, την ποσακοναζόλη και τη βορικοναζόλη. Η αλλαγή χρώματος σε λευκασμένο ροζ ή μοβ σχετίζεται με καλή ανάπτυξη και θα πρέπει να ερμηνεύεται ως θετική.

Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων:

1. Εξετάστε το βοθρίο θετικής ανάπτυξης μετά την επώαση.
2. Εάν το βοθρίο ανάπτυξης είναι ροζ, μπορούν να προσδιοριστούν τα τελικά σημεία για τους αντιμυκητιασικούς παράγοντες. Εάν το βοθρίο είναι μπλε ή αχνό μοβ, επώαστε ξανά για επιπλέον 24 ώρες και επανεξετάστε.

Μην ερμηνεύετε τη θολερότητα στην πλάκα Sensititre YeastOne, ερμηνεύετε μόνο την αλλαγή χρώματος.

3. Η MIC είναι η χαμηλότερη συγκέντρωση ενός αντιμυκητιασικού παράγοντα που αναστέλλει ουσιαστικά την ανάπτυξη του οργανισμού, όπως ανιχνεύεται από την αλλαγή χρώματος από ροζ σε μπλε.

Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Πίνακας 4. Παραδείγματα τυπικών αποτελεσμάτων εξετάσεων και τρόπος ερμηνείας τους.

Συγκέντρωση βοθρίου µg/ml	1	2	4	8	16	32	P = ΡΟΖ: Θετική ένδειξη ανάπτυξης B = ΜΠΛΕ: Αρνητική ένδειξη ανάπτυξης
A.	P	P	P	B	B	B	Τυπικό μοτίβο ανάπτυξης. Το τελικό σημείο MIC είναι 8 µg/ml.
B.	P	P	P	P	P	P	Ανάπτυξη σε όλα τα βοθρία. Το τελικό σημείο MIC είναι >32 µg/ml.
Γ.	B	B	B	B	B	B	Απουσία ανάπτυξης σε οποιοδήποτε βοθρίο. Το τελικό σημείο MIC είναι ≤1 µg/ml.
Δ.	P	P	P	B	P	P	«Βοθρίο που έχει παραλειφθεί». Το τελικό σημείο MIC είναι >32 µg/ml. Αγνοήστε τις «παραλείψεις» όταν τα βοθρία παρουσιάζουν ανάπτυξη σε οποιαδήποτε από τις δύο πλευρές. Εάν υπάρχουν περισσότερες από μία «παραλείψεις» σε μια στήλη, τα αποτελέσματα της δοκιμής είναι άκυρα*
Ε.	P	P	B	B	P	P	Διπλό «βοθρίο που έχει παραλειφθεί». Η δοκιμή θα πρέπει να επαναληφθεί *

*Με σχολαστική τεχνική, αυτά τα συμβάντα δεν παρουσιάζονται συχνά.

Εάν οι MIC για το *Candida* spp. μετρώνται χρησιμοποιώντας μια κλίμακα που δίνει αποτελέσματα, τα οποία εμπίπτουν μεταξύ κατηγοριών, υπονοείται η αμέσως υψηλότερη κατηγορία. Συνεπώς, ένα απομονωμένο στέλεχος με MIC φλουκοναζόλης 12,5 µg/mL θα πρέπει να τοποθετείται στην κατηγορία S-DD (19).

Σημειώσεις για την ανάγνωση

Αμφοτερικίνη B.

Για την αμφοτερικίνη B στις 24 ώρες, τα τελικά σημεία συνήθως καθορίζονται επαρκώς και η MIC ερμηνεύεται ως η χαμηλότερη συγκέντρωση φαρμάκου που αποτρέπει οποιαδήποτε διακριτή αλλαγή χρώματος. Συνήθως, δεν συναντώνται τελικά σημεία σταδιακής μείωσης της ανάπτυξης με την αμφοτερικίνη B.

Το πρώτο βοθρίο που παρουσιάζει διακριτή αλλαγή χρώματος σε σύγκριση με το βοθρίο θετικής ανάπτυξης είναι η MIC.



Αντιμυκητιασικοί παράγοντες φλουκυτοσίνη και αζόλη

Τα είδη *Candida albicans*, *C. glabrata* και *C. tropicalis* με φλουκυτοσίνη και αζόλες, όπως φλουκοναζόλη, ιτρακοναζόλη, κετοконаζόλη, βορικοναζόλη και ποσαконаζόλη μπορεί να δώσουν τελικά σημεία που συνήθως είναι λιγότερο

ευδιάκριτα λόγω σταδιακής μείωσης της ανάπτυξης και μπορεί να αποτελέσουν σημαντική πηγή μεταβλητότητας. Η σταδιακή μείωση της ανάπτυξης παρουσιάζεται όταν μια ελαφριά αλλαγή του χρώματος επιμένει και είναι συχνά πανομοιότυπη για όλες τις συγκεντρώσεις του φαρμάκου που είναι υψηλότερες από τη MIC. Η MIC θα πρέπει να ερμηνεύεται ως το πρώτο βοθρίο που παρουσιάζει λιγότερο έντονη αλλαγή χρώματος (γεγονός που υποδηλώνει 50% μείωση στην ανάπτυξη) σε σύγκριση με το βοθρίο θετικού μάρτυρα ανάπτυξης.

Τα στελέχη αναφοράς καθορισμένης ευαισθησίας μπορεί επίσης να βοηθήσουν στην εκπαίδευση του προσωπικού. Τα απομονωμένα στελέχη *Candida krusei* θεωρείται ότι είναι από τη φύση τους ανθεκτικά στη φλουконаζόλη και οι MIC τους δεν θα πρέπει να ερμηνεύονται¹. Το αποτέλεσμα της δοκιμής που αναφέρεται θα πρέπει να συνοδεύεται από ένα σχόλιο.

Τελικό σημείο σταδιακής μείωσης της ανάπτυξης: Αυτό συμβαίνει όταν μια μικρή αλλαγή χρώματος επιμένει και είναι συχνά πανομοιότυπη σε διάφορες συγκεντρώσεις. Η MIC θα πρέπει να ερμηνεύεται ως το πρώτο βοθρίο που παρουσιάζει λιγότερο έντονη αλλαγή χρώματος σε σύγκριση με το βοθρίο θετικού μάρτυρα ανάπτυξης (βοθρίο μετά από πλήρη αλλαγή χρώματος σε ροζ).



Εχινοκανδίνες

Τα τελικά σημεία της MIC θα πρέπει να προσδιορίζονται μετά από 24 ώρες επώασης στους 35°C. Η MIC θα πρέπει να ερμηνεύεται ως το πρώτο βοθρίο που παρουσιάζει λιγότερο έντονη αλλαγή χρώματος σε σύγκριση με το βοθρίο θετικού μάρτυρα.



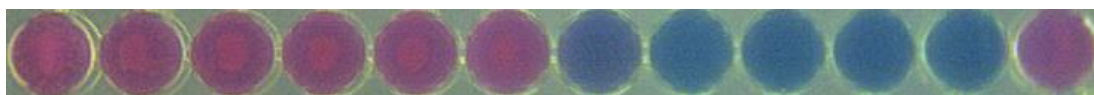
Ιτρακοναζόλη

Η ιτρακοναζόλη μπορεί να παρουσιάσει περιστασιακά καθίζηση σε συγκεντρώσεις ≥ 4 µg/ml (επισημαίνεται σαφώς με το μαύρο πλαίσιο). Αυτό μπορεί να προκαλέσει την εμφάνιση ανάπτυξης στο προσβεβλημένο βοθρίο και την αλλαγή του χρώματος σε ροζ.



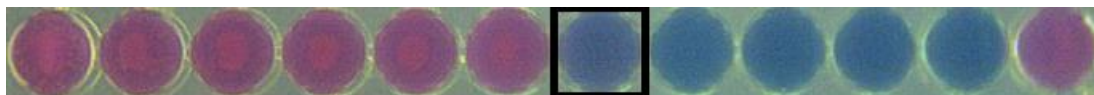
Περιστασιακά, μπορεί να παρατηρηθεί απροσδόκητη ανάπτυξη στις υψηλότερες συγκεντρώσεις ιτρακοναζόλης στις πλάκες Sensititre YeastOne, η οποία οδηγεί σε ροζ χρώση αυτών των βοθρίων.

Αυτό το παράδοξο φαινόμενο, γνωστό ως φαινόμενο Eagle¹⁸, εμφανίζεται όταν μια αύξηση της συγκέντρωσης των αντιμικροβιακών παραγόντων έχει ως αποτέλεσμα την αύξηση του αριθμού των μικροοργανισμών που επιβιώνουν. Αυτό μπορεί να οφείλεται στο γεγονός ότι ο παράγοντας μπορεί να ανταγωνίζεται ο ίδιος τον υποδοχέα στον οποίο προσδένεται (πρωτεΐνες πρόσδεσης πενικιλίνης, για παράδειγμα, στην περίπτωση μιας πενικιλίνης).



Επίλυση

Η ανάπτυξη στην υψηλή συγκέντρωση θα πρέπει να αγνοείται, εκτός εάν υπάρχει ανάπτυξη σε όλες τις άλλες συγκεντρώσεις ιτρακοναζόλης. Στο παρακάτω παράδειγμα, το αποτέλεσμα MIC πρέπει να καταγραφεί στο βοθρίο που επισημαίνεται σαφώς με το μαύρο πλαίσιο.



Εάν έχετε οποιοσδήποτε ερωτήσεις ή ανησυχίες, επικοινωνήστε με το τμήμα τεχνικής υποστήριξης στο τηλέφωνο: +44 (0) 1256 694287 | Φαξ: +44 (0) 1256 463388 ή παρακάτω για έναν κατάλογο διευθύνσεων email επικοινωνίας.

Επιμόλυνση και παραλείψεις

Επισημαίνεται ότι ένα ροζ (ανάπτυξη) βοθρίο ανάμεσα σε μπλε (χωρίς ανάπτυξη) βοθρία μπορεί να υποδεικνύει επιμόλυνση. Ανακαλλιεργήστε τα περιεχόμενα των βοθρίων για να εξακριβώσετε την αιτία.

Ένα μπλε βοθρίο σε μια σειρά ροζ βοθρίων ανάπτυξης υποδεικνύει «παραλείψη» και θα πρέπει να αγνοείται (βλέπε παραπάνω). Η ερμηνεία της MIC θα πρέπει να γίνεται χωρίς να λαμβάνονται υπόψη τυχόν βοθρία που έχουν παραλειφθεί. Εάν υπάρχουν περισσότερα από ένα βοθρία που έχουν παραλειφθεί, ο αντιμυκητιασικός παράγοντας δεν θα πρέπει να αναφέρεται.

Διαδικασίες ποιοτικού ελέγχου

Η συχνότητα των δοκιμασιών ποιοτικού ελέγχου θα πρέπει να ορίζεται σύμφωνα με τις τοπικές κατευθυντήριες οδηγίες¹.

Το ενοφθαλμισμα θα πρέπει να καλλιεργείται σε κατάλληλο μέσο, ώστε να ελέγχεται η καθαρότητά του. Εάν ανιχνευθεί μικτή καλλιέργεια, τα αποτελέσματα της δοκιμής δεν είναι έγκυρα.

Όλες οι πλάκες Sensititre περιλαμβάνουν βοθρία θετικού μάρτυρα. Οι δοκιμές είναι έγκυρες μόνον όταν υπάρχει διακριτή ανάπτυξη στο βοθρίο θετικού μάρτυρα.

Υλικά μάρτυρα/στελέχη

Οι ακόλουθες καλλιέργειες από την American Type Culture Collection (ATCC™) συνιστώνται για τον ποιοτικό έλεγχο από τον χρήστη:

- *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) - ATCC 6258
- *Candida parapsilosis* - ATCC 22019

Τα αποτελέσματα **δεν** θα πρέπει να αναφέρονται, εάν τα αποτελέσματα ποιοτικού ελέγχου δεν βρίσκονται εντός του αναμενόμενου εύρους.

Για τον ενοφθαλμισμό, την ανάγνωση και την ερμηνεία των πλακών ευαισθησίας Sensititre YeastOne κατά την εκτέλεση δοκιμασίας ποιοτικού ελέγχου από τον χρήστη, ακολουθείτε τις οδηγίες της προηγούμενης ενότητας.

Πίνακας 5. Συνιστώμενα όρια MIC 24 και 48 ωρών για δύο στελέχη ποιοτικού ελέγχου σύμφωνα με τις κατευθυντήριες οδηγίες του εγγράφου M27 του CLSI για τον έλεγχο της μικροαραίωσης σε θρεπτικό μέσο². Τα εύρη που διαφέρουν ή παρατίθενται επιπρόσθετα με τα δημοσιευμένα εύρη ποιοτικού ελέγχου εμφανίζονται υπογραμμισμένα.

Αντιμυκητιασικός παράγοντας	<i>Issatchenkia orientalis</i> ATCC6258™		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019™	
	24 ώρες	48 ώρες	24 ώρες	48 ώρες
5-Φλουκυτοσίνη	4–16	8–32	<u>0,12–0,5*</u>	0,12–0,5
Αμφοτερικίνη Β	0,5–2	1–4	0,25–2	0,5–4

Ανιδουλαφουνγκίνη	0,03-0,12	-	0,25-2	-
Κασποφουνγκίνη	0,12-1	0,25-1	0,25-1	0,5-4
Φλουκοναζόλη	8-64	16-128	0,5-4	2-8
Ιτρακοναζόλη	0,12-1	0,25-1	0,06-0,5	0,06-0,5
Μικαφουγκίνη	0,06-0,5*	0,12 – 0,5	0,5-2	0,5-4
Ποσακοναζόλη	0,06-0,5	0,12-1	0,03-0,25	0,06-0,25
Βορικοναζόλη	0,06-0,5	0,12-1	0,015-0,12	0,03-0,25
Ισαβουκοναζόλη	0,06-0,5	0,12-1,0*	0,015-0,06	0,03-0,12*

* **Εύρος Sensititre** (εσωτερικά παραγόμενο εύρος QC που δημιουργείται στο σημείο ανάπτυξης του προϊόντος χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία M27 του CLSI)

Οι αναμενόμενες τιμές QC παρέχονται στο M27M44S¹⁹ του CLSI.

Για περισσότερες πληροφορίες σχετικά με την ερμηνεία των αποτελεσμάτων ανατρέξτε στο CLSI¹.

Ειδικά χαρακτηριστικά απόδοσης

Τα πάνελ που ερμηνεύονται μη αυτόματα έχουν σχεδιαστεί, για να παρέχουν συγκρίσιμη απόδοση με τη διαδικασία μικροαραιώσεων σε θρεπτικό μέσο αναφοράς του CLSI. Ως συγκρίσιμη ορίζεται η απόδοση με > 90% βασική και κατηγορική συμφωνία ως προς δύο αραιώσεις διπλασιασμού της MIC αναφοράς¹.

Ακρίβεια μέτρησης:

Η βασική συμφωνία κατά τη δοκιμασία μικροοργανισμών QC σε πλάκες Sensititre παρατίθεται στον πίνακα 6. Βασική συμφωνία παρατηρείται όταν τα αποτελέσματα είναι εντός 2 βαθμών (σειριακή αραιώση) του μοντέλου MIC ή του αποτελέσματος του κατεψυγμένου υλικού αναφοράς.

Πίνακας 6: Βασική συμφωνία των μικροοργανισμών QC σε πλάκες Sensititre

Αντιμικροβιακός παράγοντας	Αριθμός δοκιμών	Αποτελέσματα που δείχνουν βασική συμφωνία
Αμφοτερικίνη Β	126	126 (100%)
Ανιδουλαφουνγκίνη	154	154 (100%)
Κασποφουνγκίνη	32	32 (100%)
Φλουκοναζόλη	123	123 (100%)
5-Φλουκυτοσίνη	155	155 (100%)
Ιτρακοναζόλη	135	135 (100%)
Μικαφουγκίνη	22	22 (100%)
Ποσακοναζόλη	32	32 (100%)
Βορικοναζόλη	40	40 (100%)
Ισαβουκοναζόλη	144	144 (100%)

Επαναληψιμότητα και αναπαραγωγιμότητα:

Οι επαναλαμβανόμενες καθημερινές δοκιμές που πραγματοποιήθηκαν σε τρεις ξεχωριστές χρονικές περιόδους συνοψίζονται στον πίνακα 7. Η επαναληψιμότητα και η αναπαραγωγιμότητα των πλακών Sensititre είναι $\geq 95\%$ σε σύγκριση με τα εύρη QC του M27M44S του CLSI ή του εσωτερικού QC Sensititre.

Πίνακας 7: Μη αυτόματα δεδομένα από τις πλάκες Sensititre σε τρεις ξεχωριστές χρονικές περιόδους

Αντιμικροβιακός παράγοντας	Αριθμός επαναλήψεων	Αποτελέσματα που εμπίπτουν στα εύρη M27M44S του CLSI ή του εσωτερικού QC Sensititre.
Αμφοτερικίνη Β	67	67 (100%)
Ανιδουλαφουνγκίνη	35	35 (100%)
Κασποφουνγκίνη	112	112 (100%)
Φλουконаζόλη	53	53 (100%)
5-Φλουκυτοσίνη	35	35 (100%)
Ιτρακοναζόλη	35	35 (100%)
Μικαφουγκίνη	30	30 (100%)
Ποσακοναζόλη	96	96 (100%)
Βορικοναζόλη	35	35 (100%)
Ισαβουκοναζόλη	144	144 (100%)

Ευαισθησία ανάλυσης

Οι μη αυτόματες δοκιμές ευαισθησίας που πραγματοποιήθηκαν με μικροοργανισμούς QC σε πλάκες Sensititre δείχνουν $\geq 95\%$ συμφωνία με τα εύρη QC M27M44S του CLSI ή τα εύρη εσωτερικού QC Sensititre.

Πίνακας 8: Αποτελέσματα από μη αυτόματες δοκιμές ευαισθησίας που πραγματοποιήθηκαν σε μικροοργανισμούς QC.

Αντιμικροβιακός παράγοντας	Αριθμός δοκιμών	Αποτελέσματα που εμπίπτουν στα εύρη M27M44S του CLSI ή του εσωτερικού QC Sensititre.
Αμφοτερικίνη Β	126	126 (100%)
Ανιδουλαφουνγκίνη	154	154 (100%)
Κασποφουνγκίνη	112	112 (100%)
Φλουконаζόλη	123	123 (100%)
5-Φλουκυτοσίνη	155	155 (100%)
Ιτρακοναζόλη	135	135 (100%)
Μικαφουγκίνη	100%	100 (100%)
Ποσακοναζόλη	112	112 (100%)
Βορικοναζόλη	115	115 (100%)
Ισαβουκοναζόλη	144	144 (100%)

Ειδικότητα ανάλυσης

Η ειδικότητα ανάλυσης δεν ισχύει για αυτό το ιατροτεχνολογικό προϊόν, καθώς χρησιμοποιείται καθαρή καλλιέργεια και δεν υπάρχει διασταυρούμενη αντιδραστικότητα ή/και ενδογενείς/εξωγενείς πηγές παρεμβολής.

Όριο ανίχνευσης

Το όριο ανίχνευσης για την πλάκα είναι 1 διαδοχική αραίωση σε µg/ml (π.χ. 0,03 – 0,06). Οποιαδήποτε τιμή ανάμεσα σε αυτές τις συγκεντρώσεις δεν θα ανιχνευόταν.

Πίνακας 9: Χαρακτηριστικά κλινικής απόδοσης για τις πλάκες Sensititre που περιέχουν τους ακόλουθους αντιμυκητιασικούς παράγοντες που αξιολογήθηκαν με χρήση της μεθόδου αναφοράς και των ορίων ευαισθησίας του CLSI.

Αντιμικροβιακός παράγοντας	Αριθμός απομονωμένων στελεχών που εξετάστηκαν	Κατηγορική συμφωνία CLSI	Κατηγορική συμφωνία (%) CLSI	VME%	ME%	mE%
Αμφοτερικίνη Β	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*
Ανιδουλαφουνγκίνη ^α	449	424	99,3%	0,0	0,0	3,0
Κασποφουνγκίνη	573	572	99,8%	0,0	1,0	0,0
Φλουконаζόλη ^α	1019	667	92,6%	1,89	0,92	3,53
5-Φλουκυτοσίνη	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*
Ιτρακοναζόλη	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*
Μικαφουγκίνη	315	314	99,7	0,0	0,0	0,3
Ποσακοναζόλη	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*
Βορικοναζόλη ^α	298	204	94,7%	5,0 ^β	0,0	4,7
Ισαβουκοναζόλη	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*	Δ/Ι*

*Τα όρια ευαισθησίας (BP) της 2ης έκδοσης του M60 (πλέον M27M44S) του CLSI δεν είναι πλέον διαθέσιμα.

α – Λόγω της χαμηλής απόδοσης της φλουκοναζόλης, της βορικοναζόλης και της ανιδουλαφουνγκίνης με το *C. tropicalis*, τα απομονωμένα στελέχη του *C. tropicalis* θα πρέπει να ελέγχονται με μια εναλλακτική μέθοδο.

β – Παρατηρήθηκε ένα πολύ σημαντικό σφάλμα για το *C. albicans*, το οποίο θεωρήθηκε ότι σχετίζεται με εσφαλμένη ερμηνεία της μεθόδου αναφοράς λόγω τελικών σημείων σταδιακής μείωσης της ανάπτυξης και, επομένως, χαρακτηρίστηκε τυχαίο σφάλμα.

γ- Τα χαρακτηριστικά απόδοσης των αναφερόμενων αντιμυκητιασικών παραγόντων αξιολογήθηκαν μόνο έναντι των ρυθμιστικών κριτηρίων του CLSI. Τα διαθέσιμα δεδομένα ήταν ανεπαρκή ή μη συμβατά για τον προσδιορισμό της συμμόρφωσης με τη μέθοδο EUCAST.

Συλλέχθηκε επίσης μια άλλη πηγή κλινικών δεδομένων για την περίοδο 2015-2021 με τα χαρακτηριστικά απόδοσης που περιγράφονται στον πίνακα 10 παρακάτω. Αυτή η έρευνα διεξήχθη αρχικά για την αξιολόγηση των αντιμυκητιασικών παραγόντων σε πλάκες Sensititre έναντι της μεθοδολογίας EUCAST, ωστόσο, οι αλλαγές στις κατευθυντήριες οδηγίες και τις μεθοδολογίες EUCAST σχετικά με τις πλάκες που έχουν υποβληθεί σε ιστική θεραπεία είχαν ως αποτέλεσμα να μην είναι συμβατά τα δεδομένα για αυτόν

τον σκοπό. Τα δεδομένα που λήφθηκαν αξιολογήθηκαν επίσης χρησιμοποιώντας τη μεθοδολογία και τη μέθοδο αναφοράς του CLSI. Αυτή η αξιολόγηση παρουσιάζεται παρακάτω.

Πίνακας 10. Χαρακτηριστικά κλινικής απόδοσης για τις πλάκες Sensititre που περιέχουν τους ακόλουθους αντιμυκητιασικούς παράγοντες που λήφθηκαν από μια αξιολόγηση την περίοδο 2015-2021 με τη χρήση της μεθόδου αναφοράς και των ορίων ευαισθησίας του CLSI.

Αντιμικροβιακός παράγοντας	Αριθμός απομονωμένων στελεχών που εξετάστηκαν	Κατηγορική συμφωνία	Κατηγορική συμφωνία (%)	Βασική συμφωνία	Βασική συμφωνία (%)
Ανιδουλαφουνγκίνη ^α	1150	940	95,6	1072	93,2
Κασποφουνγκίνη	499	401	93,9	493	98,8
Φλουконаζόλη ^α	1150	727	91,9	1116	97,0
5-Φλουκυτοσίνη	498	Δ/Ι*	Δ/Ι*	493	99,0
Ιτρακοναζόλη	1148	Δ/Ι*	Δ/Ι*	1082	94,3
Μικαφουγκίνη	651	545	98,0	646	99,2
Ποσακοναζόλη	499	Δ/Ι*	Δ/Ι*	481	96,4
Βορικοναζόλη ^α	1151	674	89,2 ^β	1112	96,6
Ισαβουκοναζόλη	499	Δ/Ι*	Δ/Ι*	484	97,0

*Τα όρια ευαισθησίας (BP) της 2ης έκδοσης του M60 (πλέον M27M44S) του CLSI δεν είναι πλέον διαθέσιμα.

α – Λόγω της χαμηλής απόδοσης της φλουконаζόλης, της βορικοναζόλης και της ανιδουλαφουνγκίνης με το *C. tropicalis*, τα απομονωμένα στελέχη του *C. tropicalis* θα πρέπει να ελέγχονται με μια εναλλακτική μέθοδο.

β – Η κατηγορική συμφωνία για τη βορικοναζόλη είναι ελάχιστα μικρότερη από το >90% κριτήριο του CLSI λόγω της ανεπαρκούς απόδοσης (74,3%) των απομονωμένων στελεχών του *C. tropicalis*, με αποτέλεσμα να μειώνεται η συνολική κατηγορική απόδοση (CA) για αυτόν τον αντιμυκητιασικό παράγοντα. Δεδομένου ότι ισχύει ένας περιορισμός για τη δοκιμή των απομονωμένων στελεχών του *C. tropicalis* με βορικοναζόλη, αυτή η CA μπορεί να δικαιολογηθεί.

Στοιχεία επικοινωνίας κατασκευαστή

Μπορείτε να λάβετε τις πιο πρόσφατες πληροφορίες από τον ιστότοπο www.trekds.com\techinfo/ ή επικοινωνώντας με το τμήμα τεχνικών υπηρεσιών της Thermo Fisher Scientific Microbiology.



TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19,
Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex RH19 1XZ,
Ηνωμένο Βασίλειο
Τηλ: +44 13423 18777

 Το έμβλημα ATCC Licensed Derivative®, το λεκτικό σήμα ATCC Licensed Derivative® και τα σήματα καταλόγου της ATCC είναι εμπορικά σήματα της ATCC. Η Thermo Fisher Scientific Inc. διαθέτει άδεια χρήσης αυτών των εμπορικών σημάτων και πώλησης των προϊόντων που προέρχονται από καλλιέργειες ATCC®.

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. Με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος. Το ATCC είναι εμπορικό σήμα της ATCC. Όλα τα άλλα εμπορικά σήματα αποτελούν ιδιοκτησία της Thermo Fisher Scientific Inc. και των θυγατρικών της.



Διευθύνσεις ηλεκτρονικού ταχυδρομείου Τεχνικής υποστήριξης

Αυστρία	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Βέλγιο	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Τσεχική Δημοκρατία	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Δανία	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Γαλλία	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Φινλανδία	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Γερμανία	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Ιταλία	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Ολλανδία	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Νορβηγία	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Ισπανία	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Σουηδία	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Τεχνική Υποστήριξη στο Ηνωμένο Βασίλειο	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

Γλωσσάριο συμβόλων

Σύμβολο/Σήμανση	Ερμηνεία
	Κατασκευαστής
	<i>In vitro</i> διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Όρια θερμοκρασίας (θερμοκρασία φύλαξης)
	Αριθμός παρτίδας
	Αριθμός καταλόγου
	Να μην επαναχρησιμοποιείται
	Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Περιέχει επαρκή ποσότητα για 10 δοκιμές
	Ημερομηνία λήξης
	Χρονική περίοδος μετά το άνοιγμα
	ΗΠΑ: Προσοχή: Η ομοσπονδιακή νομοθεσία περιορίζει την πώληση αυτού του ιατροτεχνολογικού προϊόντος από ιατρό ή κατόπιν εντολής ιατρού
	Μη το χρησιμοποιείτε εάν η συσκευασία έχει υποστεί ζημιά. Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης.
	Φυλάσσετε μακριά από το ηλιακό φως
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα
	Εισαγωγέας - Υποδεικνύει την οντότητα που εισάγει το ιατροτεχνολογικό προϊόν στην περιοχή. Ισχύει για την Ευρωπαϊκή Ένωση

Made in the
United Kingdom

Κατασκευάζεται στο Ηνωμένο Βασίλειο

Βιβλιογραφία

- (1) CLSI M27. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (2017 or latest edition). CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.
- (2) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric Antifungal Plate with the NCCLS, M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. **37**: 591-595.
- (3) Espinel-Ingroff A *et al.* (2002). Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel for testing voriconazole against Isolates of *Candida* spp., a comparison with the NCCLS M27-A microdilution reference method. *Clinical Microbiology and Infection*. **8**: Suppl 1. Abstract 0125.
- (4) Davey K G *et al.* (1998). Comparison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for in-vitro susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **42**: 439-444.
- (5) Linares M *et al.* (2005). Susceptibility of filamentous fungi to voriconazole tested by two microdilution methods. *Journal of Clinical Microbiology*. **43**: 250-253.
- (6) Kartsonis N *et al.* (2005). Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 3616-3623.
- (7) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of five antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. **50** :113-117.
- (8) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posiconazole and ravuconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 4577-4580.
- (9) Espinel-Ingroff A *et al.* (2004). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the NCCLS, M27-A2 reference method for testing new antifungal agents against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 718- 721.
- (10) Linares M *et al.* (2004). Comparison of two microdilution methods for testing susceptibility of *Candida* spp. to voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 899-902.
- (11) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other Yeasts and Yeast-Like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology* **37**: 591-595.
- (12) Barry A L *et al.* (2000). Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **38**: 3457-3459.
- (13) Canton E *et al.* (2005). Sensititre YeastOne® Caspofungin susceptibility testing of *Candida* clinical isolates: Correlation with results of NCCLS, M27-A2 multicenter study . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 1604 - 1607.
- (14) Holliday N M *et al.* (2007) A reproducibility study with two echinocandins using the Sensititre YeastOne® susceptibility plate. *American Microbiology Abstract* **C-191**.

- (15) Torres-Nabona M *et al.* (2007) *In Vitro* activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of Zygomycetes: Comparison of NCCLS, M38-A, Sensititre_YeastOne® and the Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **51**: 1126 -1129.
- (16) Espinel-Infgróff A (2006). Comparison of three commercial assays and a modified disk diffusion assay with two broth microdilution reference assays for testing Zygomycetes, *Aspergillus* spp, *Candida* spp, and *Cryptococcus neoformans* with posaconazole and Amphotericin B. *Journal of Clinical Microbiology* **44**: 3616-3622
- (17) Alexander B D *et al.* (2007). Comparative evaluation of Etest and Sensititre YeastOne® panels against the Clinical Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **45**: 698-706.
- (18) Eagle H. (1948). A paradoxical zone phenomenon in the bactericidal action of penicillin *in vitro*. *Science*, 1948; 107: 44-45
- (19) CLSI M27M44S. Performance Standards For Antifungal Susceptibility Testing Of Yeasts – 3rd Edition. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.



Mode d'emploi

***Plaques de sensibilité Sensititre™ YeastOne™ YO10
& ITAMYUCC Thermo Scientific***

Sensititre™ YeastOne™ YO10 & ITAMYUCC

Date de révision :

Août 2024

PLAQUES DE SENSIBILITÉ SENSITITRE YEASTONE – YO10 & ITAMYUCC THERMO SCIENTIFIC

Pour diagnostic *in vitro*

Les plaques Sensititre sont des plaques de microtitration à 96 puits, disponibles dans des formats standard et personnalisés. Plusieurs antimicrobiens/antifongiques sont disponibles dans différentes gammes de dilution (sur une grande variété de formats de plaques). Les plaques Sensititre YeastOne sont utilisées pour déterminer la CMI (concentration minimale inhibitrice).

Après ensemencement d'une suspension standardisée de micro-organismes, la plaque est recouverte d'un joint adhésif et incubée à 35 °C pendant 24 heures. Les CMI des micro-organismes testés sont lues visuellement par rapport à un changement colorimétrique afin de déterminer la concentration antifongique la plus faible qui inhibe la croissance de l'isolat.

Ce mode d'emploi concerne deux plaques de la gamme Sensititre YeastOne, YO10 et ITAMYUCC, qui seront désignées par le terme « plaque ». Sauf indication contraire, toutes les informations s'appliquent aux deux plaques.

Utilisation prévue

Les plaques YO10 et ITAMYUCC sont des dispositifs de diagnostic *in vitro* conçus pour une utilisation avec des échantillons mis en culture provenant de patients pour lesquels il existe une suspicion d'infection à levures.

La plaque est un test semi-quantitatif pour l'antibiogramme des isolats cliniques de *Candida* spp. Utilisé dans un cadre diagnostique afin d'aider les médecins à trouver d'éventuelles options thérapeutiques pour les patients pour lesquels il existe une suspicion d'infection microbienne, le dispositif n'est pas automatisé et nécessite une culture pure sur gélose. Ce dispositif est réservé à un usage professionnel et ne constitue pas un test compagnon de diagnostic.

Principes de la méthode

Une fois isolé et purifié à partir de l'échantillon du patient, l'échantillon clinique est ensemencé à une densité cellulaire connue dans un milieu de croissance et incubé pendant 24 heures en présence d'une gamme adaptée de concentrations antifongiques. La concentration la plus faible de l'intervalle de dilution logarithmique qui ne montre pas de croissance ou de changement de couleur est considérée comme la CMI. Cette CMI peut alors être associée à un schéma thérapeutique positif, en utilisant les concentrations seuils approuvées par les autorités réglementaires, sur la base de l'identification du micro-organisme et de la région du corps touchée par l'infection. L'utilisateur visé peut ensuite utiliser ces informations pour décider de la meilleure stratégie, en s'appuyant sur ces dernières et sur d'autres informations propres au patient.

Matériel fourni

- 10 plaques Sensititre
- 10 joints adhésifs

Disposition des plaques

Veuillez consulter les figures 1 et 2 pour le positionnement et la concentration des antimicrobiens (µg/ml). Pour les abréviations des médicaments, consulter le Tableau 1.

Figure 1 : Disposition et concentrations des médicaments dans la plaque Sensititre YO10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
D	FC 0,06	FC 0,12	FC 0,25	FC 0,5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Figure 2 : Disposition et concentrations des médicaments dans la plaque Sensititre ITAMYUCC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
D	ISA 0,008	ISA 0,015	ISA 0,03	ISA 0,06	ISA 0,12	ISA 0,25	ISA 0,5	ISA 1	ISA 2	ISA 4	ISA 8	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Tableau 1 : Abréviations des antimicrobiens utilisés dans les plaques YO10 et ITAMYUCC

Abréviation	Antimicrobiens
POS	Contrôle positif
MF	Micafungine
CAS	Caspofungine
FC	5-fluorocytosine
PZ	Posaconazole
VOR	Voriconazole
IZ	Itraconazole
FZ	Fluconazole
AND	Anidulafungine
AB	Amphotéricine B
ISA	Isavuconazole

Matériel requis, mais non fourni

Pour une liste du matériel non fourni avec le dispositif mais nécessaire au bon fonctionnement des plaques Sensititre YeastOne YO10 & ITAMYUCC, consulter le Tableau 2.

Tableau 2 : Description du matériel non fourni avec les plaques Sensititre YeastOne

Composant	Référence produit	Description
Bouillon Sensititre YeastOne	Y3462	11 ml de bouillon de levure pour utilisation avec les plaques Sensititre YeastOne
Eau déminéralisée Sensititre	T3339	5 ml d'eau déminéralisée pour utilisation avec les plaques Sensititre.
Étalon de mesure de la turbidité de McFarland 0,5	E1041	Étalon utilisé pour la préparation de suspensions bactériennes
Anse bactériologique	S.O.	Anse d'ensemencement pour la culture et la préparation de bactéries
Pipette de 20 µl et embouts jetables	S.O.	Instrument de laboratoire couramment utilisé pour transporter et distribuer un volume mesuré de liquide dans un embout jetable
Réservoir d'inoculum stérile	S.O.	Réservoir stérile pour suspensions microbiennes
Pipette de 100 µl et embouts jetables	S.O.	Instrument de laboratoire couramment utilisé pour transporter et distribuer un volume mesuré de liquide dans un embout jetable

Instruments facultatifs non fournis

Les instruments qui peuvent être utilisés avec les plaques Sensititre YeastOne, mais qui ne sont pas indispensables, sont énumérés ci-dessous :

Tableau 3 : Instruments facultatifs pouvant être utilisés avec les plaques Sensititre YeastOne

Composant	Référence produit	Description
Néphélomètre Sensititre	V3011	Le néphélomètre Sensititre est utilisé pour standardiser la densité de l'inoculum d'une suspension fongique. La lumière émise par une diode électroluminescente (DEL) ultra-brillante est diffusée par des particules ou des cellules microbiennes en suspension et détectée par une photodiode. La quantité de lumière diffusée est comparée à une valeur de référence obtenue en étalonnant le néphélomètre avec un étalon de turbidité de McFarland 0,5
Sensititre AIM™ Thermo Scientific (Système d'ensemencement automatisé)	V3020	Sensititre AIM est un instrument commandé par microprocesseur qui administre rapidement un inoculum par multiples de 50 µl dans une plaque de microtitration à 96 puits.
Têtes de dosage Sensititre Thermo Scientific	E3010	Produit jetable utilisé avec l'AIM pour administrer l'inoculum dans chaque puits de la plaque Sensititre.
Visionneuse manuelle	V4007	Boîte de visualisation manuelle à miroir pour une lecture visuelle simple des plaques Sensititre
Système d'affichage numérique de CMI Sensititre Vizion™ Thermo Scientific	V2021	Vizion est un instrument qui prend une image numérique d'une plaque de sensibilité Sensititre et l'envoie au système logiciel SWIN afin que les résultats soient affichés sur le PC SWIN où il pourra être lu par l'utilisateur. Vizion est raccordé via le câble fourni à un port USB sur un ordinateur (PC) exécutant le logiciel SWIN.

Conditions de stockage, de conservation et de manipulation

Les plaques doivent être conservées à température ambiante (15 à 25 °C) à l'abri de l'ensoleillement direct et des sources de chaleur directe. Chaque plaque est emballée dans une pochette en aluminium avec un agent déshydratant (gel de silice). Ne pas utiliser la plaque si (1) la couleur de l'agent déshydratant n'est pas orange, (2) que la date limite d'utilisation est dépassée ou que (3) la pochette en aluminium est endommagée. Ensemencer la plaque dans les 5 heures suivant son déballage.

Avertissements et précautions

Les résultats doivent être utilisés comme une aide à la sélection du médicament privilégié pour le traitement. Seul un personnel formé doit utiliser le système. Utiliser des méthodes adaptées pour la manipulation et la mise au rebut des micro-organismes. Si la pochette en aluminium est endommagée ou que l'agent déshydratant n'est pas orange, ne pas utiliser le dispositif.

Lors de l'application du joint adhésif, éviter de le froisser, au risque d'entraîner des résultats erronés ou des « sauts de puits ». Un puits bleu dans une série de puits de croissance roses indique un saut ou un résultat erroné et doit être ignoré. La CMI doit être lue au-dessus des puits sautés. Si plusieurs puits ont été sautés, l'antifongique ne doit pas être signalé.

Suivre les procédures d'incubation énumérées ci-dessous car les températures d'incubation supérieures à 35 °C pourraient compromettre les performances.

Aucune influence externe raisonnablement prévisible ne peut affecter le bon fonctionnement de ce dispositif dans le cadre d'une utilisation normale. Le dispositif est sensible à l'humidité et à la température et doit être utilisé conformément aux conditions de stockage et de manipulation indiquées dans ce mode d'emploi et sur l'emballage.

Il existe un risque résiduel d'exposition de l'utilisateur ou de l'environnement à des substances toxiques/dangereuses/infectieuses. Ces risques sont réduits par le fait que ce sont des professionnels cliniques qualifiés qui utilisent le dispositif en respectant les précautions établies pour les risques microbiens et les avertissements figurant dans la fiche de données de sécurité (FDS) et le mode d'emploi.

Le dispositif ne contient pas de substances CMR, de perturbateurs endocriniens ni de matériaux susceptibles de provoquer une réaction allergique dans des conditions normales d'utilisation.

Le dispositif ne contient pas de matériau infectieux. Les cultures, les récipients et autres produits contaminés doivent être stérilisés après utilisation conformément aux directives relatives à la manipulation et à la mise au rebut des déchets d'activités de soins à risques infectieux.

Consulter la FDS disponible sur le site www.trekds.com/techinfo pour obtenir des informations sur la manipulation et l'élimination sans danger du produit.

Substances interférentes et limitations

1. Les plaques Sensititre YeastOne YO10 et ITAMYUCC sont réservées aux seules espèces *Candida*. Elles ne sont pas destinées aux espèces *Cryptococcus*, aux espèces *Aspergillus* ni à différentes espèces de levures à croissance rapide. Elles ne sont pas destinées aux levures exigeantes ou à croissance lente telles que les espèces *Histoplasma* ou les espèces *Blastomyces* et les champignons filamenteux.
2. Compte tenu de la faible performance du fluconazole, de l'anidulafungine et du voriconazole avec *C. tropicalis*, les isolats de *C. tropicalis* doivent être testés avec une autre méthode.
Le système Sensititre YeastOne en 24 heures a été comparé à la méthode de référence du CLSI en 48 heures. Cependant, en raison de la difficulté à corréler les résultats des micro-organismes présentant une traîne (*C. albicans*) en 48 heures d'incubation, des taux d'erreur élevés sont observés. Les normes officielles du CLSI, M27-Ed4 2017, recommandent que les lectures soient effectuées après 24 heures pour les isolats cliniques et les souches CQ.
3. Les tests sur les champignons et les agents antifongiques sont par nature moins précis que les tests sur les bactéries.
4. Pour plus d'informations, consulter la norme M27 du CLSI relative à la sensibilité antifongique pour les levures.
5. Le changement de couleur, et non pas la turbidité, est l'indicateur du résultat. Cette fonctionnalité permet de résoudre les problèmes d'interprétation de certaines espèces *Candida* en raison de la présence de

« traînes ». Le phénomène de traîne est plus souvent observé sur des isolats obtenus à partir de prélèvements autres que ceux le sang et les liquides corporels stériles.

6. Ne pas lire en 24 heures si le puits de contrôle n'a pas subi un changement complet de couleur en passant du bleu au rose.
7. Utiliser uniquement avec le bouillon d'inoculum pour antibiogramme de levure approuvé pour le système Sensititre. L'utilisation d'autres bouillons peut entraîner des erreurs.
8. Comme pour toute méthode d'antibiogramme *in vitro*, les résultats des tests doivent être corrélés avec la réponse clinique du patient au traitement prescrit.
9. La corrélation entre la CMI de la caspofungine et les résultats du traitement après utilisation de la caspofungine n'a pas été entièrement établie⁹.
10. Seuls les instruments pris en charge par le système Sensititre, c'est-à-dire une simple visionneuse à miroir, Sensititre Vizion, doivent être utilisés pour rapporter les résultats des dispositifs Sensititre. Aucun autre système ne sera pas pris en charge.
11. L'itraconazole peut parfois sortir de la solution à des concentrations $\geq 4 \mu\text{g/ml}$. Le puits concerné peut alors présenter une croissance et virer au rose.

Limitations des antifongiques

Agent(s) antifongique(s)	Micro-organisme	Limitation
Caspofungine	<i>Candida</i> spp. excluant <i>Candida glabrata</i>	La capacité de la plaque Sensititre contenant de la caspofungine à déterminer les souches résistantes n'a pas encore été établie en raison du nombre insuffisant d'isolats résistants analysés.
Fluconazole	<i>Candida glabrata</i>	La capacité de la plaque Sensititre contenant du fluconazole à déterminer les souches résistantes n'a pas encore été établie en raison du nombre insuffisant d'isolats résistants analysés.
Caspofungine	<i>Candida tropicalis</i> et <i>Candida albicans</i>	Les valeurs de CMI avec le système pour antibiogramme Sensititre YeastOne avec caspofungine dans la plage de dilutions de 0,015 à 16 µg/ml avaient tendance à présenter une concordance exacte ou au moins une dilution double de plus pour <i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> et <i>C. glabrata</i> par rapport à la méthode de référence de microdilution en bouillon du CLSI.
Anidulafungine Fluconazole Voriconazole	<i>Candida tropicalis</i>	En raison des performances médiocres du système pour antibiogramme Sensititre YeastOne avec l'anidulafungine, le fluconazole et le voriconazole dans l'étude de comparaison, les isolats de <i>C. tropicalis</i> doivent être testés avec une méthode différente.
Caspofungine	<i>Candida glabrata</i>	En raison d'une concordance catégorielle inférieure à 90 % avec le système pour antibiogramme Sensititre YeastOne par rapport à la méthode de microdilution en bouillon antifongique du CLSI en raison de la survenue d'erreurs catégorielles et pour éviter d'éventuels résultats faussement sensibles, sélectionner une autre méthode de test avant de rapporter les résultats pour la caspofungine et <i>C. glabrata</i> lorsque la CMI est ≤ 0,12 µg/ml.
Itraconazole	<i>Candida lusitanae</i>	En raison de la faible performance (EA<90 %) d'itraconazole avec <i>C. lusitanae</i> , les isolats de <i>C. lusitanae</i> doivent être testés avec une autre méthode.

Incidents graves

Il convient de signaler tout incident grave survenu en lien avec le dispositif au fabricant et à l'autorité de réglementation compétente du pays dans lequel l'utilisateur et/ou le patient réside.

Manipulation et préparation de l'échantillon

Les échantillons doivent être recueillis, transportés, stockés et ensemencés dans un milieu d'isolement primaire conformément aux procédures standard¹.

Procédure d'ensemencement

Laisser tous les bouillons s'équilibrer à température ambiante avant de les utiliser. Les plaques doivent être ensemencées dans les 5 heures suivant leur déballage. Une densité finale en micro-organismes d'environ $1,5 - 8 \times 10^3$ UFC/ml est recommandée. Les bouillons approuvés pour le système Sensititre sont testés pour une utilisation avec le système Sensititre. À l'heure actuelle, le système Sensititre YeastOne est uniquement adapté pour les déterminations de la CMI à l'aide des méthodes et des normes de référence CLSI.

Effectuer les étapes 1 et 2 en 15 minutes maximum.

1. Prélever plusieurs colonies bien isolées de >1 mm de diamètre sur une culture pure de 24 heures (gélose de Sabouraud au dextrose) de l'isolat de levure et les émulsifier dans de l'eau déminéralisée. Bien mélanger en veillant à ce que la suspension soit uniforme ; passer au vortex si nécessaire. En cas d'agglutination, laisser la suspension reposer avant d'ajuster la densité. Ajuster visuellement ou à l'aide d'un néphélomètre Sensititre la solution pour obtenir un étalon de McFarland 0,5.
2. Transférer 20 μ l de la suspension dans 11 ml de bouillon Sensititre YeastOne pour obtenir un inoculum final de $1,5$ à 8×10^3 UFC/ml.
3. Transférer 100 μ l de la suspension finale sur la plaque Sensititre YeastOne dans les 15 minutes suivant la réalisation de l'étape 2 en utilisant l'une ou l'autre des méthodes suivantes :
 - a. **Sensititre AIM** – Remplacer le bouchon du tube par une tête de dosage Sensititre à usage unique et ensemencer la plaque conformément au manuel d'utilisation du dispositif Sensititre AIM. Retirer l'ensemble tube à essai-tête de dosage du système Sensititre AIM dans les 30 secondes suivant l'ensemencement d'une plaque et stocker ce dernier à l'envers dans un portoir ou le jeter.
 - b. **Pipette manuelle** – Verser le bouillon dans un bac de pipetage stérile et ensemencer la plaque à l'aide d'une pipette prévue à cet effet.
4. Vérifier la numération des colonies en prélevant 10 μ l du puits de contrôle positif et en l'étalant sur la gélose de Sabouraud au dextrose (SDA). Un inoculum correct produit 15 à 80 colonies.
5. Couvrir tous les puits avec le joint adhésif. Attention aux plis lors de l'application du joint adhésif.

Incubation

Après l'ensemencement, incuber les plaques à 35 °C dans un incubateur sans CO₂ pendant 24 à 25 heures. Des températures d'incubation supérieures à 35 °C peuvent impacter les performances.

Interprétation des résultats et calcul des résultats analytiques

Les plaques peuvent être lues visuellement sous un éclairage de laboratoire normal, à l'aide d'une visionneuse manuelle à miroir ou en utilisant le système Sensititre Vizion (consulter le manuel d'utilisation du système Sensititre Vizion pour plus d'informations).

La croissance des levures dans les solutions antifongiques se manifestera par un changement de l'indicateur colorimétrique de croissance, qui passera du bleu (négatif) au rose (positif). Avec certaines espèces de levures, il se peut que l'indicateur ne devienne pas complètement rose, mais présente une couleur intermédiaire violette. Certains micro-organismes peuvent présenter des couleurs violettes avec le fluconazole, l'itraconazole, le kétoconazole, le

posaconazole et le voriconazole. Un changement de couleur vers un rose ou un violet décoloré est associé à une bonne croissance et doit être interprété comme positif.

Pour interpréter les résultats :

1. Examiner le puits de contrôle de croissance positif après incubation.
2. Si le puits de croissance est rose, les résultats des antifongiques peuvent être déterminés. Si le puits est bleu ou légèrement violet, réincuber pendant 24 heures de plus et réexaminer.

Ne pas lire la turbidité de la plaque Sensititre YeastOne, mais seulement le changement de couleur.

3. La CMI est la concentration la plus faible d'un antifongique qui inhibe considérablement la croissance du micro-organisme, détectée par un changement de couleur du rose au bleu.

Interprétation des résultats

Tableau 4. Exemples de résultats de tests types et modalités d'interpréter.

Concentration du puits (µg/ml)	1	2	4	8	16	32	P = ROSE : indication de croissance positive B = BLEU : indication de croissance négative
A.	P	P	P	B	B	B	Modèle de croissance type ; le résultat de la CMI est 8 µg/ml.
B.	P	P	P	P	P	P	Croissance dans tous les puits ; Le résultat de la CMI est >32 µg/ml.
C.	B	B	B	B	B	B	Aucune croissance dans aucun puits ; le résultat de la CMI est ≤1 µg/ml.
D.	P	P	P	B	P	P	« Puits sauté ». Le résultat de la CMI est >32 µg/ml. Ne pas tenir compte du « saut » lorsque les puits de chaque côté ont une croissance. Si plusieurs « sauts » se produisent dans une colonne, les résultats du test sont invalidés*
E.	P	P	B	B	P	P	Double « puits sauté ». Le test doit alors être refait *

*Le recours à une technique rigoureuse limite la fréquence de ces épisodes.

Si les CMI de *Candida* spp. sont mesurées à l'aide d'une échelle qui donne des résultats de répartition entre deux catégories, la catégorie supérieure suivante est implicite. Ainsi, un isolat dont la CMI au fluconazole est de 12,5 µg/ml doit être placé dans la catégorie S-DD (19).

Notes de lecture

Amphotéricine B.

Les résultats de l'amphotéricine B en 24 heures sont généralement bien définis, et la CMI est lue comme la plus faible concentration en médicament qui empêche tout changement de couleur perceptible. Les résultats de traîne avec l'amphotéricine B sont généralement absents.

Le premier puits montrant un changement de couleur distinct par rapport au puits à croissance positive correspond à la CMI.



Antifongiques à la flucytosine et aux azoles

Les espèces *Candida albicans*, *C. glabrata* et *C. tropicalis* peuvent produire des résultats habituellement moins nets pour la flucytosine et les azoles, tels que le fluconazole, l'itraconazole, le kétoconazole, le voriconazole et le posaconazole, en raison du phénomène de traîne, qui peut constituer une source importante de variabilité. On parle

de phénomène de traîne lorsqu'un léger changement de couleur persiste, souvent identique à toutes les concentrations en médicament supérieures à la CMI. La CMI doit être lue comme le premier puits montrant un changement de couleur moins intense (indiquant une diminution de 50 % de la croissance) par rapport au puits du contrôle de croissance positif.

Des souches de référence d'une sensibilité définie peuvent aussi présenter un intérêt pour la formation du personnel. On suppose que les isolats de *Candida krusei* sont intrinsèquement résistants au fluconazole, raison pour laquelle leurs CMI ne doivent pas être interprétées¹. Le résultat du test rapporté doit s'accompagner d'un commentaire.

Résultat de traîne : ce phénomène se produit lorsqu'un léger changement de couleur persiste et est souvent identique dans plusieurs concentrations. La CMI doit être interprétée comme le premier puits montrant un changement de couleur moins intense par rapport au puits du contrôle de croissance positif (puits après un changement de couleur complet).



Échinocandines

Les résultats de la CMI doivent être déterminés après 24 heures d'incubation à 35 °C. La CMI doit être interprétée comme le premier puits montrant un changement de couleur moins intense par rapport au puits de contrôle positif.



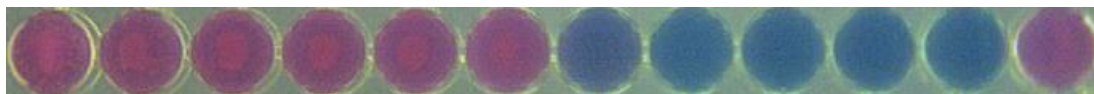
Itraconazole

L'itraconazole peut parfois précipiter à des concentrations ≥ 4 µg/ml (puits mis en évidence par le carré noir). Le puits concerné peut alors présenter une croissance et virer au rose.



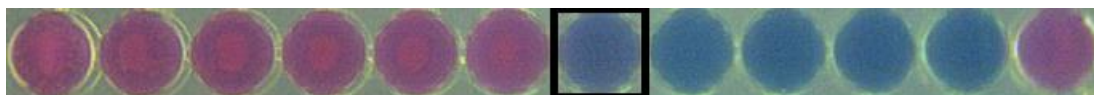
On observe parfois une croissance inattendue dans les concentrations plus élevées d'itraconazole sur les plaques Sensititre YeastOne, ce qui entraîne une coloration rose de ces puits.

Cet effet de zone paradoxale, connu sous le nom de phénomène Eagle¹⁸, se produit lorsqu'une augmentation de la concentration antimicrobienne entraîne une augmentation du nombre de micro-organismes qui survivent. Cela peut être dû à un effet d'auto-antagonisme avec le récepteur de liaison associé (par exemple, les protéines de liaison à la pénicilline dans le cas d'une pénicilline).



Résolution

La croissance dans le puits à concentration élevée doit être ignorée, à moins que toutes les autres concentrations d'itraconazole enregistrent une croissance. Dans l'exemple ci-dessous, le puits mis en évidence par le carré noir correspond au résultat CMI qui doit être enregistré.



Si vous avez des questions ou des interrogations, veuillez contacter le service d'assistance technique par téléphone au : +44 (0) 1256 694287 | Fax : +44 (0) 1256 463388 ou par courriel en consultant ci-dessous la liste d'adresses électroniques des interlocuteurs.

Contamination et sauts

À noter qu'un puits rose (croissance) entre des puits bleus (absence de croissance) peut indiquer une contamination. Contenu du puits de sous-culture pour déterminer la cause.

Un puits bleu dans une série de puits de croissance roses indique un « saut » de puits et doit être ignoré. La CMI doit être lue au-dessus de tous les puits à sauter. Si plusieurs puits ont été sautés, l'antifongique ne doit pas être signalé.

Procédures de contrôle qualité

La fréquence des analyses de contrôle qualité doit être conforme aux directives locales¹.

L'inoculum doit être mis en culture sur un milieu adapté afin d'en vérifier la pureté. Les résultats du test sont non valides en cas de détection d'une culture mixte.

Toutes les plaques Sensititre comportent des puits de contrôle positif. Les tests ne sont valides que si une croissance est détectée dans tous les puits des contrôles positifs.

Matériaux/souches de contrôle

Les cultures suivantes de l'American Type Culture Collection (ATCC™) sont recommandées pour le contrôle qualité effectué par l'utilisateur :

- *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) – ATCC 6258
- *Candida parapsilosis* – ATCC 22019

Les résultats cliniques **ne doivent pas** être rapportés si les résultats du contrôle qualité se situent en dehors des plages définies.

L'ensemencement, la lecture et l'interprétation des plaques de sensibilité Sensititre YeastOne lors du contrôle qualité de l'utilisateur doivent être effectués comme décrit dans la section précédente.

Tableau 5. Limites CMI recommandées à 24 et 48 heures pour deux souches de contrôle qualité conformément à la norme 27 du CLSI relative à la microdilution en bouillon². Les plages différentes ou en sus des plages de contrôle qualité publiées sont soulignées.

Agent antifongique	<i>Issatchenkia orientalis</i> ATCC6258™		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019™	
	24 heures	48 heures	24 heures	48 heures
5-fluorocytosine	4-16	8-32	<u>0,12-0,5*</u>	0,12-0,5
Amphotéricine B	0,5-2	1-4	0,25-2	0,5-4
Anidulafungine	0,03-0,12	-	0,25-2	-
Caspofungine	0,12-1	0,25-1	0,25-1	0,5-4
Fluconazole	8-64	16-128	0,5-4	2-8
Itraconazole	0,12-1	0,25-1	0,06-0,5	0,06-0,5
Micafungine	0,06-0,5*	0,12 - 0,5	0,5-2	0,5-4
Posaconazole	0,06-0,5	0,12-1	0,03-0,25	0,06-0,25
Voriconazole	0,06-0,5	0,12-1	0,015-0,12	0,03-0,25
Isavuconazole	0,06-0,5	0,12-1,0*	0,015-0,06	0,03-0,12*

* **Plage de sensibilité** (plage de CQ générée en interne au moment du développement du produit en utilisant la méthodologie préconisée par la norme M27 du CLSI)

Les valeurs de contrôle qualité attendues sont indiquées dans le document M27M44S du CLSI¹⁹.

Veillez consulter le document CLSI¹ pour de plus amples informations concernant l'interprétation des résultats.

Caractéristiques de performance spécifiques

Les plaques lues manuellement sont conçues pour offrir des performances comparables à la procédure de référence du CLSI pour les microdilutions en bouillon. Une performance est dite comparable lorsque les résultats d'une double dilution sont caractérisés par une concordance essentielle et catégorielle de > 90 % par rapport à la CMI de référence¹.

Précision de la mesure :

La concordance essentielle lors de l'analyse des micro-organismes CQ sur les plaques Sensititre est indiquée dans le Tableau 6. La concordance essentielle est indiquée lorsque les résultats sont à 2 puits (dilution en série) de la CMI du modèle ou du résultat de la référence congelée.

Tableau 6 : *Concordance essentielle des micro-organismes CQ sur les plaques Sensititre*

Agent antimicrobien	Nombre de tests	Résultats affichant une concordance essentielle
Amphotéricine B	126	126 (100 %)
Anidulafungine	154	154 (100 %)
Caspofungine	32	32 (100 %)
Fluconazole	123	123 (100 %)
5-fluorocytosine	155	155 (100 %)
Itraconazole	135	135 (100 %)
Micafungine	22	22 (100 %)
Posaconazole	32	32 (100 %)
Voriconazole	40	40 (100 %)
Isavuconazole	144	144 (100 %)

Répétabilité et reproductibilité :

La répétition des tests quotidiens effectués sur trois périodes distinctes est résumée dans le Tableau 7. La répétabilité et la reproductibilité des plaques Sensititre sont $\geq$ de 95 % par rapport aux plages de CQ selon la norme M27M44S du CLSI ou aux plages de CQ interne Sensititre.

Tableau 7 :Données manuelles issues des plaques Sensititre sur trois périodes distinctes

Agent antimicrobien	Nombre de répétitions	Résultats se situant dans la plage M27M44S du CLSI ou dans la plage interne de contrôle qualité Sensititre.
Amphotéricine B	67	67 (100 %)
Anidulafungine	35	35 (100 %)
Caspofungine	112	112 (100 %)
Fluconazole	53	53 (100 %)
5-fluorocytosine	35	35 (100 %)
Itraconazole	35	35 (100 %)
Micafungine	30	30 (100 %)
Posaconazole	96	96 (100 %)
Voriconazole	35	35 (100 %)
Isavuconazole	144	144 (100 %)

Sensibilité analytique

Les antibiogrammes manuels réalisés sur des micro-organismes CQ sur plaques Sensititre affichent une concordance $\geq$ de 95 % par rapport aux plages CQ selon la norme M27M44S du CLSI ou aux plages internes Sensititre.

Tableau 8 : Résultats de l'antibiogramme manuel effectué sur des micro-organismes de contrôle qualité.

Agent antimicrobien	Nombre de tests	Résultats se situant dans la plage M27M44S du CLSI ou dans la plage interne de contrôle qualité Sensititre.
Amphotéricine B	126	126 (100 %)
Anidulafungine	154	154 (100 %)
Caspofungine	112	112 (100 %)
Fluconazole	123	123 (100 %)
5-fluorocytosine	155	155 (100 %)
Itraconazole	135	135 (100 %)
Micafungine	100	100 (100 %)
Posaconazole	112	112 (100 %)
Voriconazole	115	115 (100 %)
Isavuconazole	144	144 (100 %)

Spécificité analytique

La spécificité analytique ne s'applique pas à ce dispositif en raison de l'utilisation d'une culture pure et de l'absence de réactivité croisée et/ou de sources d'interférences endogènes/exogènes.

Limite de détection

La limite de détection de la plaque est une dilution logarithmique de 1 en µg/ml (p. ex. 0,03 – 0,06). Toute concentration intermédiaire ne serait pas détectée.

Tableau 9 : Caractéristiques de performance clinique des plaques Sensititre contenant les antifongiques suivants, évaluées à l'aide de la méthode de référence et des valeurs seuils du CLSI.

Agent antimicrobien	Nombre d'isolats testés	Catégorie Concordance CLSI	Catégorie Concordance (%) CLSI	% VME	% ME	% mE
Amphotéricine B	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*
Anidulafungine ^a	449	424	99,3 %	0,0	0,0	3,0
Caspofungine	573	572	99,8 %	0,0	1,0	0,0
Fluconazole ^a	1 019	667	92,6 %	1,89	0,92	3,53
5-fluorocytosine	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*
Itraconazole	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*
Micafungine	315	314	99,7	0,0	0,0	0,3
Posaconazole	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*
Voriconazole ^a	298	204	94,7 %	5,0 ^b	0,0	4,7
Isavuconazole	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*	S.O.*

*Les valeurs seuils (BP) M60 du CLSI (rebaptisés M27M44S) 2e édition ne sont plus disponibles.

a – Compte tenu de la faible performance du fluconazole, du voriconazole et de l'anidulafungine avec *C. tropicalis*, les isolats de *C. tropicalis* doivent être testés avec une autre méthode.

b – Une erreur majeure grave (VME) a été constatée avec *C. albicans*. Cette erreur a été considérée comme liée à une interprétation incorrecte de la méthode de référence en raison de la présence de résultats de traîne et a donc été considérée comme une erreur aléatoire.

c- Les caractéristiques de performance des antifongiques indiqués n'ont été évaluées que par rapport aux critères réglementaires du CLSI. Les données disponibles étaient insuffisantes ou incompatibles pour déterminer la conformité à la méthode EUCAST.

Une autre source de données cliniques a également été recueillie entre 2015 et 2021 avec les caractéristiques de performance décrites dans le Tableau 10 ci-dessous. Elle a été initialement réalisée pour évaluer les antifongiques sur les plaques Sensititre par rapport à la méthodologie EUCAST, mais les modifications apportées aux directives et aux méthodologies de l'EUCAST concernant les plaques traitées avec des tissus ont entraîné l'incompatibilité des données à cette fin. Les données obtenues ont

également été évaluées à l'aide de la méthodologie et de la méthode de référence du CLSI. Cette évaluation est présentée ci-dessous.

Tableau 10. Caractéristiques de performance clinique des plaques Sensititre contenant les antifongiques suivants, issues d'une évaluation réalisée entre 2015 et 2021 l'aide de la méthode de référence et des valeurs seuils du CLSI.

Agent antimicrobien	Nombre d'isolats testés	Catégorie Concordance	Catégorie Concordance (%)	Concordance essentielle	Concordance essentielle (%)
Anidulafungine ^a	1 150	940	95,6	1 072	93,2
Caspofungine	499	401	93,9	493	98,8
Fluconazole ^a	1 150	727	91,9	1 116	97,0
5-fluorocytosine	498	S.O.*	S.O.*	493	99,0
Itraconazole	1 148	S.O.*	S.O.*	1 082	94,3
Micafungine	651	545	98,0	646	99,2
Posaconazole	499	S.O.*	S.O.*	481	96,4
Voriconazole ^a	1 151	674	89,2 ^b	1 112	96,6
Isavuconazole	499	S.O.*	S.O.*	484	97,0

*Les valeurs seuils (BP) M60 du CLSI (rebaptisés M27M44S) 2e édition ne sont plus disponibles.

a – Compte tenu de la faible performance du fluconazole, du voriconazole et de l'anidulafungine avec *C. tropicalis*, les isolats de *C. tropicalis* doivent être testés avec une autre méthode.

b – La concordance catégorielle pour le voriconazole se situe juste en dessous du critère de >90 % du CLSI en raison des mauvaises performances des isolats de *C. tropicalis* (74,3 %), réduisant la CC globale pour cet antifongique. Dans la mesure où les isolats de *C. tropicalis* ont une limitation concernant les tests avec le voriconazole, cette CC peut être justifiée.

Coordonnées du fabricant

Les informations les plus récentes peuvent être obtenues sur le site www.trekds.com/techinfo ou en contactant les services techniques de microbiologie de Thermo Fisher Scientific.



TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19,
Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex RH19 1XZ,
Royaume-Uni
Tél. : +44 13423 18777



Le logo ATCC Licensed Derivative®, la marque verbale ATCC Licensed Derivative® et la marque catalogue ATCC sont des marques déposées d'ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. est autorisé à utiliser ces marques déposées et à vendre des produits dérivés des cultures ATCC®.

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. Tous droits réservés. ATCC est une marque déposée d'ATCC. Toutes les autres marques déposées sont la propriété de Thermo Fisher Scientific Inc. et de ses filiales.



Adresses électroniques de l'assistance technique

Autriche	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgique	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
République tchèque	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Danemark	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
France	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finlande	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Allemagne	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Italie	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Pays-Bas	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norvège	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Espagne	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Suède	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Assistance technique au Royaume-Uni	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

Glossaire des pictogrammes

Pictogramme/marquage	Signification
	Fabricant
	<i>Dispositif médical de diagnostic in vitro</i>
	Limites de température (temp. de stockage)
	Numéro de lot
	Référence catalogue
	Ne pas réutiliser
	Consulter le mode d'emploi
	Contient suffisamment de matériel pour 10 tests
	Date limite d'utilisation
	Période d'utilisation après ouverture
	États-Unis : Attention : la législation fédérale n'autorise la vente de ce dispositif que sur ordonnance d'un médecin
	Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé. Consulter le mode d'emploi.
	Conserver à l'abri de l'ensoleillement direct
	Représentant agréé dans la Communauté européenne
	Importateur – Pour indiquer l'entité qui importe le dispositif médical localement. Applicable à l'Union européenne

Made in the
United Kingdom

Fabriqué au Royaume-Uni

Références bibliographiques

- (1) CLSI M27. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (2017 or latest edition). CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.
- (2) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric Antifungal Plate with the NCCLS, M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. **37**: 591-595.
- (3) Espinel-Ingroff A *et al.* (2002). Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel for testing voriconazole against Isolates of *Candida* spp., a comparison with the NCCLS M27-A microdilution reference method. *Clinical Microbiology and Infection*. **8**: Suppl 1. Abstract 0125.
- (4) Davey K G *et al.* (1998). Comparison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for in-vitro susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **42**: 439-444.
- (5) Linares M *et al.* (2005). Susceptibility of filamentous fungi to voriconazole tested by two microdilution methods. *Journal of Clinical Microbiology*. **43**: 250-253.
- (6) Kartsonis N *et al.* (2005). Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 3616-3623.
- (7) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of five antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. **50** :113-117.
- (8) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posiconazole and ravuconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 4577-4580.
- (9) Espinel-Ingroff A *et al.* (2004). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the NCCLS, M27-A2 reference method for testing new antifungal agents against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 718- 721.
- (10) Linares M *et al.* (2004). Comparison of two microdilution methods for testing susceptibility of *Candida* spp. to voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 899-902.
- (11) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other Yeasts and Yeast-Like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology* **37**: 591-595.
- (12) Barry A L *et al.* (2000). Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **38**: 3457-3459.
- (13) Canton E *et al.* (2005). Sensititre YeastOne® Caspofungin susceptibility testing of *Candida* clinical isolates: Correlation with results of NCCLS, M27-A2 multicenter study . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 1604 - 1607.
- (14) Holliday N M *et al.* (2007) A reproducibility study with two echinocandins using the Sensititre YeastOne® susceptibility plate. *American Microbiology Abstract* **C-191**.

- (15) Torres-Nabona M *et al.* (2007) *In Vitro* activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of Zygomycetes: Comparison of NCCLS, M38-A, Sensititre_YeastOne® and the Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **51**: 1126 -1129.
- (16) Espinel-Infgróff A (2006). Comparison of three commercial assays and a modified disk diffusion assay with two broth microdilution reference assays for testing Zygomycetes, *Aspergillus* spp, *Candida* spp, and *Cryptococcus neoformans* with posaconazole and Amphotericin B. *Journal of Clinical Microbiology* **44**: 3616-3622
- (17) Alexander B D *et al.* (2007). Comparative evaluation of Etest and Sensititre YeastOne® panels against the Clinical Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **45**: 698-706.
- (18) Eagle H. (1948). A paradoxical zone phenomenon in the bactericidal action of penicillin *in vitro*. *Science*, 1948; 107: 44-45
- (19) CLSI M27M44S. Performance Standards For Antifungal Susceptibility Testing Of Yeasts – 3rd Edition. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.



Instrukcja użytkowania

*Płytki do oznaczania lekowrażliwości **Sensititre™**
YeastOne™ YO10 i ITAMYUCC firmy
Thermo Scientific*

Sensititre™ YeastOne™ YO10 i ITAMYUCC

Data zmiany:

sierpień 2024 r.

PŁYTKI FIRMY THERMO SCIENTIFIC DO OZNACZANIA LEKOWRAŻLIWOŚCI — YO10 I ITAMYUCC

Do stosowania w diagnostyce *in vitro*

Płytki Sensititre to 96-dółkowe płytki do mikromiareczkowania, dostępne zarówno w formacie standardowym, jak i niestandardowym. Dostępnych jest wiele środków przeciwdrobnoustrojowych/przeciwgrzybiczych w różnych zakresach rozcieńczeń (na różnorodnych formatach płytek). Płytki Sensititre YeastOne są stosowane do oznaczania MIC (minimalnego stężenia hamującego).

Po inokulacji standaryzowaną zawiesiną drobnoustrojów płytka jest przykrywana folią samoprzylepną i inkubowana w temperaturze 35°C przez 24 godziny. Wartości MIC dla badanych drobnoustrojów są odczytywane wizualnie w odniesieniu do zmiany kolorymetrycznej w celu określenia najniższego stężenia środka przeciwgrzybiczego, które hamuje wzrost izolatu..

Niniejsza instrukcja użytkowania dotyczy dwóch płytek z asortymentu Sensititre YeastOne — płytki YO10 i płytki ITAMYUCC, które w dalszej części dokumentu będą określane jako „płytką”. O ile nie określono inaczej, wszystkie podane tu informacje dotyczą obu płytek.

Przeznaczenie

Płytki YO10 i ITAMYUCC to wyroby medyczne do diagnostyki *in vitro*, przeznaczone do stosowania z próbkami wyhodowanymi od pacjentów z podejrzeniem zakażenia drożdżakowego.

Płytką jest półilościowym testem do badania lekowności klinicznych izolatów *Candida* spp. Jest wykorzystywana w procesie diagnostycznym, aby pomóc klinicyście w określeniu potencjalnych opcji leczenia pacjentów z podejrzeniem zakażenia drożdżakowego, nie jest jednak zautomatyzowana i wymaga użycia czystej hodowli na podłożu agarowym. Ten wyrób jest przeznaczony wyłącznie do użytku profesjonalnego i nie jest wykorzystywany do diagnostyki w terapii celowanej.

Zasada działania

Po wyizolowaniu i oczyszczeniu z próbki pobranej od pacjenta, próbkę kliniczną o znanej gęstości komórek inokuluje się do pożywki wzrostowej i inkubuje przez 24 godziny w obecności odpowiedniego zakresu stężeń środków przeciwgrzybiczych. Za wartość MIC uznaje się najniższe stężenie z zakresu rozcieńczeń logarytmicznych, przy którym nie stwierdza się zmiany barwy. Ustalona w ten sposób wartość MIC można następnie powiązać z określonym sposobem leczenia, korzystając z zatwierdzonych przez organy regulacyjne stężeń granicznych, w oparciu o identyfikację drobnoustroju i umiejscowienie zakażenia w organizmie pacjenta. Docelowy użytkownik może następnie wykorzystać te informacje do podjęcia decyzji o najlepszym sposobie postępowania w oparciu o te i inne informacje dotyczące konkretnego pacjenta.

Materiały dostarczone

- Płytki Sensititre — 10 szt.
- Folie samoprzylepne — 10 szt.

Układy płytek

Rozmieszczenie poszczególnych środków przeciwdrobnoustrojowych wraz z ich stężeniami (µg/ml) przedstawiono na rysunkach 1 i 2. Skróty nazw leków rozwinięto w tabeli 1.

Rysunek 1: Rozmieszczenie leków i ich stężenia na płytce Sensititre YO10

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
D	FC 0,06	FC 0,12	FC 0,25	FC 0,5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Rysunek 2: Rozmieszczenie leków i ich stężenia na płytce Sensititre ITAMYUCC

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0,015	AND 0,03	AND 0,06	AND 0,12	AND 0,25	AND 0,5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0,12
B	MF 0,008	MF 0,015	MF 0,03	MF 0,06	MF 0,12	MF 0,25	MF 0,5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0,25
C	CAS 0,008	CAS 0,015	CAS 0,03	CAS 0,06	CAS 0,12	CAS 0,25	CAS 0,5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0,5
D	ISA 0,008	ISA 0,015	ISA 0,03	ISA 0,06	ISA 0,12	ISA 0,25	ISA 0,5	ISA 1	ISA 2	ISA 4	ISA 8	AB 1
E	PZ 0,008	PZ 0,015	PZ 0,03	PZ 0,06	PZ 0,12	PZ 0,25	PZ 0,5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0,008	VOR 0,015	VOR 0,03	VOR 0,06	VOR 0,12	VOR 0,25	VOR 0,5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0,015	IZ 0,03	IZ 0,06	IZ 0,12	IZ 0,25	IZ 0,5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0,12	FZ 0,25	FZ 0,5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

Tabela 1: Skróty nazw środków przeciwdrobnoustrojowych użytych w płytkach YO10 i ITAMYUCC

Skrót	Nazwa środka przeciwdrobnoustrojowego
POS	Kontrola dodatnia
MF	Mykafungina
CAS	Kaspofungina
FC	5-fluorocytozyna
PZ	Pozakonazol
VOR	Worykonazol
IZ	Itrakonazol
FZ	Flukonazol
AND	Anidulafungina
AB	Amfoterycyna B
ISA	Izawukonazol

Materiały wymagane, ale niedostarczone

Wykaz materiałów niedostarczanych z omawianym wyrobem medycznym, ale koniecznych do prawidłowego korzystania z płytek Sensititre YeastOne YO10 i ITAMYUCC, podano w tabeli 2.

Tabela 2: Opis materiałów, które nie są dostarczane z płytkami Sensititre YeastOne

Element	Kod produktu	Opis
Bulion Sensititre YeastOne	Y3462	11 ml bulionu do hodowli drożdży przeznaczonego do stosowania z płytkami Sensititre YeastOne
Woda demineralizowana Sensititre	T3339	5 ml wody demineralizowanej do stosowania z płytkami Sensititre.
Wzorzec mętności 0,5 w skali McFarlanda	E1041	Wzorzec stosowany do sporządzania zawiesin bakteryjnych
Eza bakteriologiczna	Nie dotyczy	Eza inokulacyjna do stosowania w hodowlach bakteryjnych i w preparatyce mikrobiologicznej
Pipeta o pojemności 20 µl z końcówkami jednorazowymi	Nie dotyczy	Narzędzie laboratoryjne powszechnie używane do transportu i dozowania odmierzanej objętości cieczy za pomocą jednorazowej końcówki
Jałowy pojemnik na inokulum	Nie dotyczy	Jałowy pojemnik do przechowywania zawiesin drobnoustrojów
Pipeta o pojemności 100 µl z końcówkami jednorazowymi	Nie dotyczy	Narzędzie laboratoryjne powszechnie używane do transportu i dozowania odmierzanej objętości cieczy za pomocą jednorazowej końcówki

Niedostarczane przyrządy opcjonalne

Przyrządy, które mogą być używane z płytkami Sensititre YeastOne, ale nie są niezbędne, wymieniono poniżej:

Tabela 3: Przyrządy opcjonalne, które można używać z płytkami Sensititre YeastOne

Element	Kod produktu	Opis
Nefelometr Sensititre	V3011	Nefelometr Sensititre służy do standaryzowania gęstości inokulum zawiesiny grzybów. Światło z diody elektroluminescencyjnej (LED) o bardzo wysokiej jasności świecenia jest rozpraszane przez cząstki lub komórki drobnoustrojów w zawiesinie i wykrywane przez fotodiody. Ilość rozproszonego światła jest porównywana z wartością referencyjną uzyskaną przez kalibrację nefelometru za pomocą wzorca mętności 0,5 według skali McFarlanda
Sensititre AIM™ firmy Thermo Scientific (automatyczny system dozujący inokulum)	V3020	Sensititre AIM™ to sterowany mikroprocesorem przyrząd umożliwiający szybkie dozowanie inokulum w objętościach stanowiących wielokrotność 50 µl do 96-dółkowej płytki mikromiareczkowej.
Głowice dozujące Sensititre firmy Thermo Scientific	E3010	Jednorazowe, używane z systemem AIM do dostarczania inokulum do każdego dołka płytki Sensititre.
Ręczna przegładarka	V4007	Ręczna przegładarka lustrzana do wykonywania prostych odczytów wizualnych płytek Sensititre
Cyfrowy system do odczytywania MIC Sensititre Vizion™ firmy Thermo Scientific	V2021	System Vizion to przyrząd, które rejestruje cyfrowy obraz płytki Sensititre do badań lekowrażliwości i wysyła je do oprogramowania SWIN, dzięki czemu wyniki są wyświetlane na komputerze stacjonarnym SWIN, a użytkownik może się z nimi zapoznać. System Vizion jest podłączony za pomocą dostarczonego przewodu do portu USB w komputerze z oprogramowaniem SWIN.

Warunki przechowywania, okres trwałości i sposób obchodzenia się z omawianym wyrobem medycznym

Płytki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (15–25°C), z dala od bezpośredniego światła słonecznego i bezpośrednich źródeł ciepła. Każda płytka jest zapakowana w folię ze środkiem osuszającym, którym jest żel krzemionkowy. Nie należy używać płytki, jeśli (1) barwa środka osuszającego nie jest pomarańczowa, (2) upłynęła data ważności lub (3) torebka foliowa jest uszkodzona. Inokulację płytki należy przeprowadzić w ciągu 5 godzin od wyjęcia z torebki foliowej.

Ostrzeżenie i środki ostrożności

Uzyskane wyniki należy traktować jako pomoc w doborze leku pierwszego wyboru do zastosowania w leczeniu. System powinien być obsługiwany wyłącznie przez odpowiednio przeszkolony personel. Konieczne jest prawidłowe obchodzenie się z drobnoustrojami i stosowanie właściwych metod utylizacji. Jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone lub środek osuszający nie jest pomarańczowy, to omawianego wyrobu medycznego nie należy używać.

Podczas nakładania folii samoprzylepnej nie wolno dopuszczać do jej zmarszczenia, gdyż może to spowodować uzyskanie błędnych wyników lub tzw. przeskoki między dołkami. Dołek wybarwiający się na niebiesko w szeregu dołków wybarwiających się na różowo wskazuje na tzw. przeskok między dołkami/błędny wynik i powinien zostać zignorowany. Wartość MIC należy odczytywać powyżej wszelkich przeskoczonych dołków. Jeśli obecny jest więcej niż jeden przeskoczony dołek, to danego środka przeciwczyźbiczego nie należy raportować.

Należy postępować zgodnie z procedurami inkubacji opisanymi poniżej, ponieważ temperatury inkubacji powyżej 35°C mogą mieć wpływ na działanie omawianego wyrobu medycznego.

Nie ma racjonalnie przewidywalnych czynników zewnętrznych, które mogłyby wpłynąć na prawidłowe działanie omawianego urządzenia podczas rutynowego użytkowania. Urządzenie jest wrażliwe na wilgoć i temperaturę i powinno być używane zgodnie z odpowiednimi warunkami przechowywania i sposobem obchodzenia się z urządzeniem podanych w niniejszej instrukcji użytkowania i na opakowaniu.

Istnieje pewne ryzyko resztkowe narażenia użytkownika lub środowiska na działanie materiałów toksycznych/niebezpiecznych/zakaźnych. Ryzyko to jest minimalizowane o ile omawiane urządzenie obsługiwane jest przez odpowiednio przeszkolonych klinicystów, stosowane są ogólnie przyjęte środki ostrożności w związku z zagrożeniem mikrobiologicznym i ostrzeżeniami wymienionymi w karcie charakterystyki (SDS) oraz w niniejszej instrukcji użytkowania.

Wyrób nie zawiera żadnych substancji rakotwórczych, mutagennych ani mających toksyczny wpływ na reprodukcję, substancji zaburzających gospodarkę hormonalną ani materiałów, które mogą powodować uczulenie lub reakcję alergiczną podczas normalnego użytkowania.

Wyrób nie zawiera żadnych materiałów zakaźnych. Hodowle, pojemniki oraz inne zanieczyszczone materiały muszą zostać wysterylizowane po użyciu zgodnie z wytycznymi dotyczącymi obchodzenia się z odpadami stanowiącymi zagrożenie biologiczne oraz ich utylizacji.

Informacje na temat bezpiecznego obchodzenia się z produktem i jego utylizacji podano w karcie charakterystyki dostępnej na stronie www.trekds.com/techinfo.

Substancje zakłócające i ograniczenia

1. Płytki Sensititre YeastOne Plates YO10 i ITAMYUCC są przeznaczone do stosowania wyłącznie z gatunkami z rodziny *Candida*. Nie są przeznaczone do stosowania z gatunkami z rodziny *Cryptococcus*, *Aspergillus* ani różnymi szybko rosnącymi gatunkami drożdży. Nie są przeznaczone do stosowania z drożdżami wybrednymi lub wolno rosnącymi, takimi jak *Histoplasma* czy *Blastomyces*, ani z grzybami strzępkowymi.
2. Ze względu na niską skuteczność flukonazolu, anidulafunginy i worykonazolu w odniesieniu do *C. tropicalis*, izolaty *C. tropicalis* należy badać inną metodą. Oceniono porównanie systemu Sensititre YeastOne po 24 godzinach z metodą referencyjną CLSI po 48 godzinach. Jednak ze względu na trudności w skorelowaniu punktów końcowych drobnoustrojów wykazujących wzrost resztkowy (ang. trailing) (*C. albicans*) po 48 godzinach inkubacji, obserwowano wysoką częstość występowania błędów. Oficjalne normy CLSI (norma M27-Ed4 2017) zalecają, aby odczyty przeprowadzać po 24 godzinach w przypadku izolatów klinicznych i szczepów do kontroli jakości.
3. Oznaczanie grzybów i leków przeciwczyźbiczych jest z natury mniej precyzyjne niż badanie bakterii.

4. Dodatkowe wytyczne można znaleźć w dokumencie CLSI dotyczącym oznaczania wrażliwości drożdży na leki przeciwgrzybicze — w normie M27.
5. Wskaźnikiem punktu końcowego jest zmiana barwy, a nie mętność. Pomaga to rozwiązać wątpliwości związane z interpretacją niektórych gatunków *Candida* ze względu na zjawisko resztkowego wzrostu. Zjawisko resztkowego wzrostu jest częściej spotykane w przypadku izolatów innych niż te uzyskane z krwi i innych jałowych płynów ustrojowych.
6. Nie należy dokonywać odczytu po upływie 24 godzin, jeśli w dołku kontrolnym nie nastąpiła całkowita zmiana koloru z niebieskiego na różowy.
7. Należy stosować wyłącznie z bulionem do inokulacji przeznaczonym do oznaczania wrażliwości drożdży i zatwierdzonym do stosowania z systemem Sensititre. Stosowanie innych bulionów może skutkować błędem.
8. Jak w przypadku wszystkich metod oznaczania wrażliwości w warunkach *in vitro* należy skorelować wyniki oznaczeń z odpowiedzią pacjenta na przepisany lek.
9. Korelacja między MIC kaspofunginy a wynikiem leczenia po zastosowaniu tego leku nie została jeszcze w pełni ustalona⁹.
10. Do raportowania wyników uzyskanych przy użyciu produktów Sensititre należy używać wyłącznie przyrządów obsługiwanych przez system Sensititre, tj. prostej przeglądarki lustrzanej, Sensititre Vizion. Wszelkie inne systemy używane w tym celu nie będą obsługiwane.
11. Itrakonazol może w sporadycznych wypadkach wytrącić się z roztworu przy stężeniach $\geq 4 \mu\text{g/ml}$. W dołku, w którym do tego dojdzie, może nastąpić wzrost i zmiana barwy na różową.

Ograniczenia dotyczące środków przeciwgrzybiczych

Środki przeciwgrzybicze	Drobnoustrój	Ograniczenie
Kaspofungina	<i>Candida</i> spp. z wyłączeniem <i>Candida glabrata</i>	Możliwość wykorzystywania płytki Sensititre zawierającej kaspofunginę w celu wykrywania szczepów opornych nie została dotychczas potwierdzona ze względu na niewystarczającą liczbę przetestowanych izolatów opornych.
Flukonazol	<i>Candida glabrata</i>	Możliwość wykorzystywania płytki Sensititre zawierającej flukonazol w celu wykrywania szczepów opornych nie została dotychczas potwierdzona ze względu na niewystarczającą liczbę przetestowanych izolatów opornych.
Kaspofungina	<i>Candida tropicalis</i> i <i>Candida albicans</i>	Wartości MIC uzyskane przy użyciu systemu wrażliwości Sensititre YeastOne z kaspofunginą w zakresie rozcieńczeń 0,015–16 µg/ml wykazywały całkowitą zgodność lub były co najmniej o jedno podwójne rozcieńczenie wyższe dla <i>C. tropicalis</i> , <i>C. albicans</i> i <i>C. glabrata</i> w porównaniu z referencyjną metodą mikrorozcieńczeń w bulionie CLSI.
Anidulafungina Flukonazol Worykonazol	<i>Candida tropicalis</i>	Ze względu na niską skuteczność systemu wrażliwości Sensititre YeastOne z anidulafunginą, flukonazolem i worykonazolem w badaniu porównawczym, izolaty <i>C. tropicalis</i> należy badać alternatywną metodą.
Kaspofungina	<i>Candida glabrata</i>	Ze względu na zgodność kategoryczną poniżej 90% z systemem wrażliwości Sensititre YeastOne w porównaniu z metodą mikrorozcieńczeń w bulionie przeciwgrzybiczym CLSI spowodowaną występowaniem błędów kategorycznych i w celu uniknięcia potencjalnych fałszywych wyników wskazujących na wrażliwość, w przypadku wartości MIC ≤0,12 µg/ml należy przed zgłoszeniem wyników dla kaspofunginy i <i>C. glabrata</i>

		wykonać test alternatywną metodą.
Itrakonazol	<i>Candida lusitaniae</i>	Ze względu na niską skuteczność (EA <90%) itrakonazolu z <i>C. lusitaniae</i> , izolaty <i>C. lusitaniae</i> należy badać alternatywną metodą.

Poważne incydenty

Każdy poważny incydent, który wystąpił w związku z wyrobem, należy zgłosić do producenta i odpowiedniego organu regulacyjnego w państwie, w którym użytkownik i/lub pacjent ma miejsce zamieszkania.

Obchodzenie się z próbką i jej przygotowanie

Próbki należy pobierać, przenosić, przechowywać i nanosić na płytki z podstawowym podłożem do izolacji z wykorzystaniem standardowych procedur¹.

Procedura inokulacji

Przed użyciem odczekać, aż wszystkie buliony osiągną temperaturę pokojową. Inokulacji płytek należy dokonać w ciągu 5 godzin od wyjęcia z torebki foliowej. Zalecana jest ostateczna gęstość drobnoustrojów w zakresie $1,5\text{--}8 \times 10^3$ jtk/ml. Buliony zatwierdzone do stosowania z systemem Sensititre zostały przetestowane pod kątem wydajności w przypadku ich używania z systemem Sensititre. System Sensititre YeastOne nadaje się obecnie wyłącznie do oznaczania wartości MIC przy użyciu metod i wzorców referencyjnych CLSI.

Etapy 1 i 2 należy ukończyć w ciągu 15 minut.

- Wybrać kilka dobrze wyodrębnionych kolonii o średnicy >1 mm z czystej 24-godzinnej hodowli izolatu drożdży (na podłożu Sabauroud Dextrose Agar (SDA)) i dokonać emulgacji w wodzie demineralizowanej. Dobrze wymieszać, upewniając się, że zawiesina jest jednorodna, a w razie potrzeby zworteksować. Jeśli powstaną grudki, przed dostosowaniem gęstości należy odczekać, aż zawiesina osiadzie. Skorygować do wzorca mętności 0,5 McFarlanda, oceniając wzrokowo lub za pomocą nefelometru Sensititre.
- Przenieść 20 µl zawiesiny do 11 ml bulionu Sensititre YeastOne, aby uzyskać ostateczne inokulum $1,5\text{--}8 \times 10^3$ jtk/ml.
- Przenieść 100 µl zawiesiny końcowej na płytkę Sensititre YeastOne w ciągu 15 minut od zakończenia etapu 2 za pomocą jednego z następujących dwóch sposobów:
 - System Sensititre AIM** — zastąpić nasadkę probówki jednorazową głowicą dozującą Sensititre I dokonać inokulacji płytki zgodnie z podręcznikiem użytkownika systemu Sensititre AIM. Wyjąć probówkę wraz z głowicą dozującą z systemu Sensititre AIM w ciągu 30 sekund od inokulacji płytki i przechowywać odwróconą do góry dnem w statywie lub wyrzucić.
 - Pipeta ręczna** — wlać bulion do jałowego pojemnika do inokulacji i dokonać inokulacji płytki za pomocą odpowiedniej pipety.
- Sprawdzenie liczby kolonii należy przeprowadzić, pobierając 10 µl inokulum z dołka dodatknej kontroli wzrostu i nanosząc je na podłożo Sabauroud Dextrose Agar (SDA). Prawidłowo przygotowane inokulum doprowadzi do powstania 15–80 kolonii.
- Przykryć wszystkie dołki folią samoprzylepną. Nie dopuścić do powstania pomarszczeń podczas nakładania folii samoprzylepnej.

Inkubacja

Po inokulacji inkubować płytki w temperaturze 35°C w inkubatorze bez dostępu CO₂ przez 24 do 25 godzin. Inkubacja w temperaturze powyżej 35°C może wpłynąć na wydajność.

Interpretacja wyników i obliczanie wyniku analitycznego

Płytki mogą być odczytywane wzrokowo w normalnym oświetleniu laboratoryjnym, przy użyciu ręcznej przeglądarki lustrzanej lub systemu Sensititre Vizion (dodatkowe informacje można znaleźć w instrukcji obsługi systemu Sensititre Vizion).

Wzrost drożdży w roztworach środków przeciwgrzybiczych będzie widoczny jako zmiana kolorymetrycznego wskaźnika wzrostu z niebieskiego (ujemnego) na różowy (dodatni). Niektóre gatunki drożdży mogą nie zmienić wskaźnika całkowicie na różowy, ale wykazywać pośredni, fioletowy kolor. Niektóre drobnoustroje mogą dawać fioletowe zabarwienie z flukonazolem, itrakonazolem, ketokonazolem, pozakonazolem i worykonazolem. Zmiana koloru na wyblakły róż lub fiolet jest związana z prawidłowym wzrostem i należy ją odczytywać jako wynik dodatni.

Aby zinterpretować wyniki:

1. Po inkubacji sprawdzić dołek dodatniego wzrostu.
2. Jeśli dołek wykazuje dodatni wzrost powodujący zabarwienie na różowo, można ustalić punkty końcowe dla środków przeciwgrzybiczych. Jeśli dołek jest niebieski lub lekko fioletowy, należy przeprowadzić inkubację przez kolejne 24 godziny i ponownie zbadać.

Nie należy odczytywać zmętnienia na płytce Sensititre YeastOne, tylko zmianę barwy.

3. MIC to najniższe stężenie środka przeciwgrzybiczego, które znacząco hamuje wzrost drobnoustroju, co jest wykrywane poprzez zmianę barwy z różowej na niebieską.

Interpretacja wyników

Tabela 4. Przykłady typowych wyników testu i sposobu ich interpretacji.

Stężenie w dołku w µg/ml							P = RÓŻOWY: Wskaźnik dodatniego wzrostu
s	1	2	4	8	16	32	B = NIEBIESKI: Wskaźnik ujemnego wzrostu
A.	P	P	P	B	B	B	Typowy wzorzec wzrostu; punkt końcowy MIC jest 8 µg/ml.
B.	P	P	P	P	P	P	Wzrost we wszystkich dołkach; punkt końcowy MIC jest >32 µg/ml.
C.	B	B	B	B	B	B	Brak wzrostu w którymkolwiek z dołków; punkt końcowy MIC jest ≤1 µg/ml.
D.	P	P	P	B	P	P	„Przeskoczony dołek”. Punkt końcowy MIC jest >32 µg/ml. Przeskoczony dołek należy zignorować, jeśli po którejś z jego stron stwierdza się wzrost. Jeśli w jednej kolumnie stwierdza się więcej niż jeden przeskoczony dołek, wyniki testu należy unieważnić*
E.	P	P	B	B	P	P	Podwójny „przeskoczony dołek”. Test należy powtórzyć *

*Jeśli stosuje się staranną technikę, takie przypadki nie są częste.

Jeśli wartości MIC dla *Candida* spp. są mierzone za pomocą skali, która daje wyniki plasujące się pomiędzy kategoriami, zakłada się, że wynik należy do następnej wyższej kategorii. Zatem izolatowi o wartości MIC flukonazolu równej 12,5 µg/ml należałoby przypisać kategorię S-DD (19).

Uwagi dotyczące odczytywania wyniku

Amfoterycyna B.

W przypadku odczytu amfoterycyny B po 24 godzinach punkty końcowe są zwykle łatwe do określenia, a MIC odczytuje jako najniższe stężenie leku, które zapobiega powstaniu jakichkolwiek zmian barwy. W przypadku amfoterycyny B zwykle nie spotyka się punktów końcowych z płynnym przejściem koloru.

Pierwszy dołek wykazujący wyraźną zmianę koloru, w porównaniu z dołkiem dodatniego wzrostu, wyznacza MIC.



Flucytozyna i azolowe leki przeciwgrzybiczne

Candida albicans, *C. glabrata* i *C. tropicalis* w przypadku badania z zastosowaniem flucytozyny i azoli, takich jak flukonazol, itrakonazol, ketokonazol, worykonazol i pozakonazol, dają zazwyczaj mniej ostre punkty końcowe z powodu wzrostu z płynnym przejściem koloru, co może stanowić istotne źródło zmienności. Płynne przejście koloru występuje, gdy pomiędzy kolejnymi dołkami utrzymują się niewielkie różnice zabarwienia i zjawisko to często ma identyczną postać dla wszystkich stężeń leku powyżej MIC. Wartość MIC należy odczytywać jako pierwszy dołek z mniej wyraźną zmianą koloru (wskazujący na 50-procentowy spadek wzrostu) w porównaniu z dołkiem dodatniej kontroli wzrostu.

Szczepy referencyjne o określonej wrażliwości mogą być także przydatne w szkoleniu personelu. Zakłada się, że izolaty *Candida krusei* są samoistnie odporne na flukonazol i ich wartości MIC nie należy interpretować¹. Do raportu z wyniku testu należy dołączyć komentarz.

Punkt końcowy z płynnym przejściem koloru: Zjawisko to następuje, gdy pomiędzy kolejnymi dołkami utrzymują się niewielkie różnice zabarwienia i często ma ono identyczną postać przy kilku różnych stężeniach leku. Wartość MIC należy odczytywać jako pierwszy dołek wykazujący wyraźną zmianę koloru w porównaniu z dołkiem dodatniej kontroli wzrostu (dołek, w którym doszło do całkowitej zmiany koloru na kolor różowy).



Echinokandyny

Punkty końcowe MIC należy oznaczyć po 24 godzinach inkubacji w temperaturze 35°C. Wartość MIC należy odczytywać jako pierwszy dołek wykazujący wyraźną zmianę koloru w porównaniu z dołkiem dodatniej kontroli wzrostu.



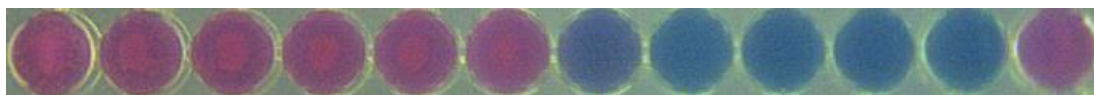
Itrakonazol

Itrakonazol może czasami wytrącać się w stężeniach ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ (wyraźnie zaznaczone czarnym kwadratem). W dołku, w którym do tego dojdzie, może nastąpić wzrost i zmiana barwy na różową.



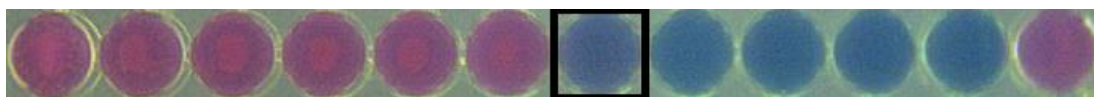
Sporadycznie można zaobserwować nieoczekiwany wzrost w wyższych stężeniach itrakonazolu na płytkach Sensititre YeastOne, co powoduje zaróżowienie tych dołków.

Ten paradoksalny efekt, znany jako zjawisko Eagle'a¹⁸, występuje, gdy wzrost stężenia środka przeciwdrobnoustrojowego powoduje wzrost liczby drobnoustrojów, które przeżywają. Może to wynikać z samoantagonizującego działania w stosunku do powiązanego receptora wiążącego (np. białek wiążących penicylinę w przypadku penicyliny).



Rozwiązanie

Wzrost w wysokim stężeniu należy zignorować, chyba że wzrost występuje we wszystkich pozostałych stężeniach itrakonazolu. W poniższym przykładzie oznaczony czarną ramką dołek wskazuje miejsce, w którym należy odczytać wynik MIC.



W przypadku jakichkolwiek innych pytań lub wątpliwości prosimy o kontakt z działem pomocy technicznej telefonicznie pod numerem: +44 (0) 1256 694287, za pomocą faksu pod numerem: +44 (0) 1256 463388 lub patrz niżej, aby uzyskać listę kontaktowych adresów e-mail.

Zanieczyszczenia i przeskoki

Dołek zabarwiony na różowo (wzrost) pomiędzy dołkami zabarwionymi na niebiesko (brak wzrostu) może także wskazywać na zanieczyszczenie. W celu ustalenia przyczyny należy wykonać hodowlę pochodną.

Niebieski dołek w serii dołków z czerwonym wzrostem wskazuje na dołek przeskoczony, który należy zignorować. Wartość MIC należy odczytywać powyżej wszelkich przeskoczonych dołków. Jeśli obecny jest więcej niż jeden przeskoczony dołek, to danego środka przeciwrzybiczego nie należy raportować.

Procedury kontroli jakości

Częstość testów w ramach kontroli jakości należy dostosować do lokalnych wytycznych¹.

Aby sprawdzić jego czystość, inokulum należy posiać na odpowiednim podłożu. W przypadku wykrycia hodowli mieszanej wyniki testu są nieważne.

Wszystkie płytki Sensititre zawierają dołki do kontroli dodatniej. Jeśli nie uzyskano wyraźnego wzrostu w dołku kontroli dodatniej, testy są nieważne.

Materiały/szczepy kontrolne

Do badania kontroli jakości przez użytkownika zalecane są następujące hodowle ze zbioru American Type Culture Collection (ATCC™):

- *Issatchenkia orientalis* (*Candida krusei*) — ATCC 6258
- *Candida parapsilosis* — ATCC 22019

Jeśli wyniki kontroli jakości nie mieszczą się w zakresie oczekiwanym, to wyników klinicznych **nie należy** raportować.

Inokulacja, odczyt i interpretacja płytek do oznaczania lekowrażliwości Sensititre YeastOne podczas testów w ramach kontroli jakości użytkownika powinny być wykonywane zgodnie z opisem w poprzednim punkcie.

Tabela 5. Zalecane limity MIC po 24 i 48 godzinach dla dwóch szczepów do kontroli jakości zgodnie z wytycznymi CLSI M27 badania metodą mikrorozcieńczeń w bulionie². Zakresy, które różnią się od opublikowanych zakresów kontroli jakości lub są w stosunku do nich dodatkowe, zostały podkreślone.

Środek przeciwrzybiczy	<i>Issatchenkia orientalis</i> ATCC6258™		<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019™	
	24 godziny	48 godzin	24 godziny	48 godzin
5-fluorocytozyna	4–16	8–32	<u>0,12–0,5*</u>	0,12–0,5
Amfoterycyna B	0,5–2	1–4	0,25–2	0,5–4
Anidulafungina	0,03–0,12	-	0,25–2	-
Kaspofungina	0,12–1	0,25–1	0,25–1	0,5–4
Flukonazol	8–64	16–128	0,5–4	2–8
Itrakonazol	0,12–1	0,25–1	0,06–0,5	0,06–0,5
Mykafungina	0,06–0,5*	0,12–0,5	0,5–2	0,5–4
Pozakonazol	0,06–0,5	0,12–1	0,03–0,25	0,06–0,25
Worykonazol	0,06–0,5	0,12–1	0,015–0,12	0,03–0,25
Izawukonazol	0,06–0,5	0,12–1,0*	0,015–0,06	0,03–0,12*

* Zakres Sensititre (wewnętrznie generowany zakres kontroli jakości wygenerowany na etapie opracowywania produktu przy użyciu metodologii CLSI M27)

Oczekiwane wartości kontroli jakości podano w wytycznych CLSI M27M44S¹⁹.

Więcej informacji na temat interpretacji wyników można znaleźć w wytycznych CLSI¹.

Swoiste parametry skuteczności

Panele odczytywane ręcznie są zaprojektowane tak, aby zapewnić porównywalną wydajność z referencyjną procedurą mikrobulionową CLSI. Porównywalna wydajność jest definiowana jako >90% zasadniczej i kategorycznej zgodności w zakresie dwóch podwojonych rozcieńczeń referencyjnego MIC¹.

Precyzja pomiaru:

Podstawowe informacje dotyczące testów drobnoustrojów do kontroli jakości na płytkach Sensititre można znaleźć w tabeli 6. Zasadnicza zgodność jest zgłaszana, gdy wyniki mieszczą się w granicach 2 dołków (rozcieńczenia seryjne) modelowego MIC lub zamrożonego wyniku referencyjnego.

Tabela 6: Zasadnicza zgodność drobnoustrojów do kontroli jakości na płytkach Sensititre

Srodek	Liczba testów	Wyniki pokazujące zasadniczą zgodność
Amfoterycyna B	126	126 (100%)
Anidulafungina	154	154 (100%)
Kaspofungina	32	32 (100%)
Flukonazol	123	123 (100%)
5-fluorocytozyna	155	155 (100%)
Itrakonazol	135	135 (100%)
Mykafungina	22	22 (100%)
Pozakonazol	32	32 (100%)
Worykonazol	40	40 (100%)
Izawukonazol	144	144 (100%)

Powtarzalność i odtwarzalność:

Wyniki powtarzanych codziennie testów przeprowadzonych w trzech oddzielnych okresach podsumowano w tabeli 7. Powtarzalność i odtwarzalność płytek Sensititre jest $\geq 95\%$ w porównaniu do zakresów kontroli jakości określonych w wytycznych CLSI M27M44S lub wewnętrznych zakresów kontroli jakości Sensititre.

Tabela 7: Dane ręczne z płytek Sensititre w trzech oddzielnych okresach

Środek	Liczba powtórzeń	Wyniki mieszczące się w zakresach kontroli jakości określonych w wytycznych CLSI M27M44S lub wewnętrznych zakresach kontroli jakości Sensititre.
Amfoterycyna B	67	67 (100%)
Anidulafungina	35	35 (100%)
Kaspofungina	112	112 (100%)
Flukonazol	53	53 (100%)
5-fluorocytozyna	35	35 (100%)
Itrakonazol	35	35 (100%)
Mykafungina	30	30 (100%)
Pozakonazol	96	96 (100%)
Worykonazol	35	35 (100%)
Izawukonazol	144	144 (100%)

Czułość analityczna

Ręczne badania lekowrażliwości przeprowadzone na drobnoustrojach do kontroli jakości na płytkach Sensititre wykazują $\geq 95\%$ zgodności z zakresami kontroli jakości określonymi w wytycznych CLSI M27M44S lub wewnętrznymi zakresami kontroli jakości Sensititre.

Tabela 8: Wyniki ręcznego badania lekowrażliwości przeprowadzonego na drobnoustrojach do kontroli jakości.

Środek	Liczba testów	Wyniki mieszczące się w zakresach kontroli jakości określonych w wytycznych CLSI M27M44S lub wewnętrznych zakresach kontroli jakości Sensititre.
Amfoterycyna B	126	126 (100%)
Anidulafungina	154	154 (100%)
Kaspofungina	112	112 (100%)
Flukonazol	123	123 (100%)
5-fluorocytozyna	155	155 (100%)
Itrakonazol	135	135 (100%)
Mykafungina	100	100 (100%)
Pozakonazol	112	112 (100%)
Worykonazol	115	115 (100%)

Izawukonazol	144	144 (100%)
--------------	-----	------------

Swoistość analityczna

Swoistość analityczna nie ma zastosowania w przypadku tego wyrobu medycznego, ponieważ używana jest czysta hodowla i nie występuje reaktywność krzyżowa i/lub endogenne/egzogenne źródła zakłóceń.

Granica wykrywalności

Granica wykrywalności dla płytki wynosi 1 log rozcieńczenia w µg/ml (np. 0,03–0,06). Wartości zawarte pomiędzy tymi stężeniami nie zostaną wykryte.

Tabela 9: Charakterystyka skuteczności klinicznej płytek Sensititre zawierających następujące leki przeciwgrzybicze ocenione przy użyciu metody referencyjnej i wartości granicznych CLSI.

Środek przeciwdrobnoustro- jowy	Liczba przebadanych izolatów	Zgodność kategorii CLSI	Zgodność kategorii (%) CLSI	VME %	ME %	mE%
Amfoterycyna B	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*
Anidulafungina ^a	449	424	99,3%	0,0	0,0	3,0
Kasopofungina	573	572	99,8%	0,0	1,0	0,0
Flukonazol ^a	1019	667	92,6%	1,89	0,92	3,53
5-fluorocytozyna	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*
Itrakonazol	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*
Mykafungina	315	314	99,7	0,0	0,0	0,3
Pozakonazol	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*
Worykonazol ^a	298	204	94,7%	5,0 ^b	0,0	4,7
Izawukonazol	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*	nd.*

*Wartości graniczne (ang. breakpoints, BP) z CLSI M60 (obecna nazwa: M27M44S), wyd. 2, nie są już dostępne.

a — Ze względu na niską skuteczność flukonazolu, worykonazolu i anidulafunginy w stosunku do *C. tropicalis*, izolaty *C. tropicalis* należy badać inną metodą.

b — Wystąpił jeden bardzo poważny błąd dotyczący *C. albicans*, który uznano za związany z błędną interpretacją metody referencyjnej ze względu na punkty końcowe związane ze zjawiskiem wzrostu reszkowego (ang. *trailing*) i dlatego uznano go za błąd losowy.

c — Charakterystykę działania podanych środków przeciwgrzybiczych oceniano wyłącznie w oparciu o kryteria regulacyjne CLSI. Dostępne dane były niewystarczające lub niezgodne, aby określić zgodność z metodą EUCAST.

W latach 2015–2021 zbierano również inne dane kliniczne, których charakterystykę działania opisano w tabeli 10 poniżej. Początkowo badanie miało na celu ocenę środków przeciwgrzybiczych na płytkach Sensititre w kontekście metodologii EUCAST. Jednakże zmiany w wytycznych i metodologiach EUCAST

dotyczące płytek poddanych obróbce dla hodowli tkankowych spowodowały, że dane nie nadawały się już do tego celu. Uzyskane dane poddano również ocenie z wykorzystaniem metodologii CLSI oraz metody referencyjnej. Ocenę tę przedstawiono poniżej.

Tabela 10. Charakterystyka skuteczności klinicznej płytek Sensititre zawierających następujące leki przeciwgrzybicze ustalona na podstawie oceny przeprowadzonej w latach 2015–2021 przy użyciu metody referencyjnej i wartości granicznych CLSI.

Środek przeciwdrobnoustrojowy	Liczba przebadanych izolatów	Zgodność kategorii	Zgodność kategorii (%)	Zgodność zasadnicza	Zgodność zasadnicza (%)
Anidulafungina ^a	1150	940	95,6	1072	93,2
Kaspofungina	499	401	93,9	493	98,8
Flukonazol ^a	1150	727	91,9	1116	97,0
5-fluorocytozyna	498	nd.*	nd.*	493	99,0
Itrakonazol	1148	nd.*	nd.*	1082	94,3
Mykafungina	651	545	98,0	646	99,2
Pozakonazol	499	nd.*	nd.*	481	96,4
Worykonazol ^a	1151	674	89,2 ^b	1112	96,6
Izawukonazol	499	nd.*	nd.*	484	97,0

*Wartości graniczne (ang. breakpoints, BP) z CLSI M60 (obecna nazwa: M27M44S), wyd. 2, nie są już dostępne.

a — Ze względu na niską skuteczność flukonazolu, worykonazolu i anidulafunginy w stosunku do *C. tropicalis*, izolaty *C. tropicalis* należy badać inną metodą.

b — Zgodność kategorii dla worykonazolu mieści się tuż pod kryterium CLSI >90% z powodu słabej oceny izolatów *C. tropicalis* (74,3%), co obniżyło ogólny wynik CA tego leku przeciwgrzybiczego. Ze względu na to, że dla izolatów *C. tropicalis* wskazane jest ograniczenie w zakresie testów z worykonazolem, taka wartość CA może być uzasadniona.

Informacje kontaktowe wytwórcy

Najnowsze informacje można uzyskać na stronie www.trekds.com/techinfo albo kontaktując się z działem technicznym ds. mikrobiologii firmy Thermo Fisher Scientific.



TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19,
Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex RH19 1XZ,
Wielka Brytania
Tel.: +44 13423 18777

 Emblemat ATCC Licensed Derivative®, znacznik słowa ATCC Licensed Derivative® oraz znaczniki katalogowe ATCC są znakami towarowymi ATCC. Thermo Fisher Scientific Inc. ma licencję na używanie tych znaków towarowych i sprzedaż produktów pochodnych od hodowli ATCC®.

© 2021 Thermo Fisher Scientific Inc. Wszelkie prawa zastrzeżone. ATCC jest znakiem towarowym ATCC. Wszelkie pozostałe znaki towarowe stanowią własność firmy Thermo Fisher Scientific Inc. i jej spółek zależnych.



Adresy e-mail do działów wsparcia technicznego

Austria	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Belgia	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Czechy	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
Dania	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Francja	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
Finlandia	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
Niemcy	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
Włochy	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
Holandia	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
Norwegia	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Hiszpania	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
Szwecja	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
Wsparcie techniczne na terenie Wielkiej Brytanii	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

Słownik symboli

Symbol/oznakowanie	Znaczenie
	Producent
	Wyrób medyczny do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Ograniczenia dotyczące temperatury (temperatura przechowywania)
	Numer serii/partii
	Numer katalogowy
	Nie używać ponownie
	Zapoznać się z instrukcją użytkowania
	Zawiera ilość materiału wystarczającą do 10 testów
	Okres trwałości
	Okres użycia po otwarciu
	Stany Zjednoczone: Uwaga: prawo federalne zezwala na sprzedaż tego wyrobu wyłącznie przez lekarza lub na jego polecenie
	Nie używać jeżeli opakowanie jest uszkodzone. Zapoznać się z instrukcją użytkowania.
	Chronić przed światłem słonecznym
	Upoważniony przedstawiciel we Wspólnocie Europejskiej
	Importer — podmiot importujący wyrób medyczny do danej lokalizacji. Obowiązuje w Unii Europejskiej

Made in the United Kingdom	Wyprodukowano w Wielkiej Brytanii
----------------------------	-----------------------------------

Bibliografia

- (1) CLSI M27. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (2017 or latest edition). CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.
- (2) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric Antifungal Plate with the NCCLS, M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. **37**: 591-595.
- (3) Espinel-Ingroff A *et al.* (2002). Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel for testing voriconazole against Isolates of *Candida* spp., a comparison with the NCCLS M27-A microdilution reference method. *Clinical Microbiology and Infection*. **8**: Suppl 1. Abstract 0125.
- (4) Davey K G *et al.* (1998). Comparison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for in-vitro susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **42**: 439-444.
- (5) Linares M *et al.* (2005). Susceptibility of filamentous fungi to voriconazole tested by two microdilution methods. *Journal of Clinical Microbiology*. **43**: 250-253.
- (6) Kartsonis N *et al.* (2005). Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 3616-3623.
- (7) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of five antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. **50** :113-117.
- (8) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posiconazole and ravuconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 4577-4580.
- (9) Espinel-Ingroff A *et al.* (2004). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the NCCLS, M27-A2 reference method for testing new antifungal agents against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 718- 721.
- (10) Linares M *et al.* (2004). Comparison of two microdilution methods for testing susceptibility of *Candida* spp. to voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 899-902.
- (11) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other Yeasts and Yeast-Like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology* **37**: 591-595.
- (12) Barry A L *et al.* (2000). Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **38**: 3457-3459.
- (13) Canton E *et al.* (2005). Sensititre YeastOne® Caspofungin susceptibility testing of *Candida* clinical isolates: Correlation with results of NCCLS, M27-A2 multicenter study . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 1604 - 1607.
- (14) Holliday N M *et al.* (2007) A reproducibility study with two echinocandins using the Sensititre YeastOne® susceptibility plate. *American Microbiology Abstract* **C-191**.

- (15) Torres-Nabona M *et al.* (2007) *In Vitro* activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of Zygomycetes: Comparison of NCCLS, M38-A, Sensititre_YeastOne® and the Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **51**: 1126 -1129.
- (16) Espinel-Infgróff A (2006). Comparison of three commercial assays and a modified disk diffusion assay with two broth microdilution reference assays for testing Zygomycetes, *Aspergillus* spp, *Candida* spp, and *Cryptococcus neoformans* with posaconazole and Amphotericin B. *Journal of Clinical Microbiology* **44**: 3616-3622
- (17) Alexander B D *et al.* (2007). Comparative evaluation of Etest and Sensititre YeastOne® panels against the Clinical Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **45**: 698-706.
- (18) Eagle H. (1948). A paradoxical zone phenomenon in the bactericidal action of penicillin *in vitro*. *Science*, 1948; 107: 44-45
- (19) CLSI M27M44S. Performance Standards For Antifungal Susceptibility Testing Of Yeasts – 3rd Edition. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.



使用说明

Thermo Scientific Sensititre™ YeastOne™ YO10 & ITAMYUCC 药敏板

Sensititre™ YeastOne™ YO10 & ITAMYUCC

修订日期:

2024 年 8 月

THERMO SCIENTIFIC SENSITITRE YEASTONE 药敏板 – YO10 & ITAMYUCC

供体外诊断使用

药敏板为 96 孔微量滴定板，有标准板和定制板两种规格。可基于各种药敏板规格提供具有不同稀释范围的多重抗菌药物/抗真菌药物。Sensititre YeastOne 药敏板用于测定最低抑菌浓度（Minimum Inhibitory Concentration，以下简称 MIC）。

接种标准微生物悬液后，用粘合密封膜盖住药敏板，并在 35°C 下孵育 24 小时。目视读取供试微生物在比色变化方面的 MIC，以确定抑制分离株生长的最低抗真菌浓度。

本使用说明（Instructions for Use，以下简称 IFU）文件介绍了 Sensititre YeastOne 系列的两种药敏板（YO10 和 ITAMYUCC），以下简称为“药敏板”。除非另有说明，否则所有信息均适用于这两种药敏板。

预期用途

YO10 和 ITAMYUCC 属于体外诊断器械，预期用于检测疑似酵母菌感染患者的培养样本。

这类药敏板可用于念珠菌属临床分离株药敏试验的半定量检测。该药敏板并非自动化器械，需要纯琼脂培养，可用于诊断工作流程，帮助临床医生为疑似酵母菌感染患者确定可能的治疗方案。本器械供专业人员使用，不是伴随诊断产品。

方法原理

将临床标本从患者标本中分离和纯化后，随即以已知的细胞密度接种到生长培养基中，并在具有适当浓度范围的抗真菌药物条件下孵育 24 小时。对数稀释度范围内未显示颜色变化的最低浓度被视为 MIC。然后，可根据微生物的鉴定结果和身体的感染部位，利用经监管机构批准的折点浓度，将该 MIC 与一种良好的治疗方案关联起来。预期用户可根据此信息和其他患者特异性信息决定最佳行动方案。

交付内容

- 10 x 药敏板
- 10 x 粘合密封膜

药敏板布局

抗菌药物的位置和浓度 (µg/ml) 请参阅图 1 和图 2。药物缩写请参阅表 1。

图 1: Sensititre YO10 的药物布局和浓度

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0.015	AND 0.03	AND 0.06	AND 0.12	AND 0.25	AND 0.5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0.12
B	MF 0.008	MF 0.015	MF 0.03	MF 0.06	MF 0.12	MF 0.25	MF 0.5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0.25
C	CAS 0.008	CAS 0.015	CAS 0.03	CAS 0.06	CAS 0.12	CAS 0.25	CAS 0.5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0.5
D	FC 0.06	FC 0.12	FC 0.25	FC 0.5	FC 1	FC 2	FC 4	FC 8	FC 16	FC 32	FC 64	AB 1
E	PZ 0.008	PZ 0.015	PZ 0.03	PZ 0.06	PZ 0.12	PZ 0.25	PZ 0.5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0.008	VOR 0.015	VOR 0.03	VOR 0.06	VOR 0.12	VOR 0.25	VOR 0.5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0.015	IZ 0.03	IZ 0.06	IZ 0.12	IZ 0.25	IZ 0.5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0.12	FZ 0.25	FZ 0.5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

图 2: Sensititre ITAMYUCC 的药物布局和浓度

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	POS	AND 0.015	AND 0.03	AND 0.06	AND 0.12	AND 0.25	AND 0.5	AND 1	AND 2	AND 4	AND 8	AB 0.12
B	MF 0.008	MF 0.015	MF 0.03	MF 0.06	MF 0.12	MF 0.25	MF 0.5	MF 1	MF 2	MF 4	MF 8	AB 0.25
C	CAS 0.008	CAS 0.015	CAS 0.03	CAS 0.06	CAS 0.12	CAS 0.25	CAS 0.5	CAS 1	CAS 2	CAS 4	CAS 8	AB 0.5
D	ISA 0.008	ISA 0.015	ISA 0.03	ISA 0.06	ISA 0.12	ISA 0.25	ISA 0.5	ISA 1	ISA 2	ISA 4	ISA 8	AB 1
E	PZ 0.008	PZ 0.015	PZ 0.03	PZ 0.06	PZ 0.12	PZ 0.25	PZ 0.5	PZ 1	PZ 2	PZ 4	PZ 8	AB 2
F	VOR 0.008	VOR 0.015	VOR 0.03	VOR 0.06	VOR 0.12	VOR 0.25	VOR 0.5	VOR 1	VOR 2	VOR 4	VOR 8	AB 4
G	IZ 0.015	IZ 0.03	IZ 0.06	IZ 0.12	IZ 0.25	IZ 0.5	IZ 1	IZ 2	IZ 4	IZ 8	IZ 16	AB 8
H	FZ 0.12	FZ 0.25	FZ 0.5	FZ 1	FZ 2	FZ 4	FZ 8	FZ 16	FZ 32	FZ 64	FZ 128	FZ 256

表 1: YO10 和 ITAMYUCC 所用抗菌药物的缩写

缩写	抗菌药物
POS	阳性对照
MF	米卡芬净
CAS	卡泊芬净
FC	5-氟胞嘧啶
PZ	泊沙康唑
VOR	伏立康唑
IZ	伊曲康唑
FZ	氟康唑
AND	阿尼芬净
AB	两性霉素 B
ISA	艾沙康唑

自备材料

有关正确操作 Sensititre YeastOne YO10 和 ITAMYUCC 药敏板所需但未随该器械提供的材料清单，请参阅表 2。

表 2：对未随 Sensititre YeastOne 药敏板提供的材料的说明

组件	产品代码	说明
Sensititre YeastOne 肉汤	Y3462	11 mL 酵母菌肉汤，与 Sensititre YeastOne 药敏板配合使用
Sensititre 去矿物质水	T3339	5 mL 去矿物质水，与 Sensititre 药敏板配合使用
0.5 号麦氏浊度标准管	E1041	用于制备细菌悬液的标准管
取菌环	不适用	用于细菌培养和制备的接种环
20 µl 移液器和一次性吸头	不适用	常用于通过一次性吸头转移和分配一定体积液体的一种实验室工具
无菌接种器	不适用	用于容纳微生物悬液的无菌贮罐
100 µl 移液器和一次性吸头	不适用	常用于通过一次性吸头转移和分配一定体积液体的一种实验室工具

自备仪器（可选）

下表列出了可与 Sensititre YeastOne 药敏板配合使用但不是必需使用的仪器：

表 3：可与 Sensititre YeastOne 药敏板配合使用的仪器（可选）

组件	产品代码	说明
Sensititre 浊度仪	V3011	Sensititre 浊度仪用于标定真菌悬液的接种物密度。超亮发光二极管（Light-Emitting Diode，以下简称 LED）发出的光被悬液中的颗粒或微生物细胞散射，并可通过光电二极管检出。将散射光量与使用 0.5 号麦氏浊度标准管校准浊度仪得出的参考值进行比较。
Thermo Scientific Sensititre AIM™ (自动菌液加样系统)	V3020	Sensititre AIM 是一种用微处理器控制的仪器，可快速向 96 孔微量滴定板注入 50 µl 倍数体积的接种物。
Thermo Scientific Sensititre 加样头	E3010	与 AIM 一起使用的一次性产品，用于将接种物输送至 Sensititre 药敏板的每个孔中。
手工判读仪	V4007	镜面手工判读仪用于对 Sensititre 药敏板进行简单的目视读取
Thermo Scientific Sensititre Vizion™ 数字 MIC 查看系统	V2021	Vizion 仪器可拍摄 Sensititre 药敏板的数字图像并将其发送至 SWIN 软件，以便在 SWIN PC 上显示结果并可由用户读取。Vizion 通过提供的电缆连接至运行 SWIN 软件的一台计算机 (PC) 上的 USB 端口。

储存、保质期和处理条件

药敏板应储存在室温 (15-25°C) 下，避免阳光直射和直接接触热源。每个药敏板均采用带硅胶干燥剂的铝箔包装。如果出现以下情况，请勿使用药敏板：(1) 干燥剂颜色不是橙色，(2) 有效期已过，或 (3) 箔袋损坏。从箔袋中取出后 5 小时内对药敏板进行接种。

警告和注意事项

结果应作为选择治疗药物的辅助依据。只能由受训人员操作系统。应使用适当的生物处理和处置方法。如果铝箔包装损坏或干燥剂不是橙色，请勿使用本器械。

使用粘合密封膜时请避免折痕，因为这可能会导致错误结果或“跳孔”。如果一系列粉红色生长孔中出现一个蓝色孔，则表示存在跳孔/错误结果，应予以忽略。MIC 读取位置应高于所有跳孔。如果跳孔不止一个，则不应报告该抗真菌药物的结果。

请按照下列孵育程序进行操作，因为孵育温度超过 35°C 可能会影响性能。

在正常使用过程中，没有任何可以合理预见的外部因素会影响本器械的正常工作。本器械对湿度和温度敏感，应按照这份使用说明中及包装上规定的正确储存和处理条件使用。

对于暴露于有毒/有害/传染性物质的用户或环境，存在一些残留物风险。如果本器械由经过培训的临床专业人员在遵循既定的微生物危害预防措施以及安全数据表（Safety Data Sheet，以下简称 SDS）和使用说明中所列出警告要求的前提下使用，则可以降低这些风险。

本器械不含致癌、致突变和具有生殖毒性的物质（Carcinogenic, Mutagenic and Reprotoxic substances，以下简称 CMR）、干扰内分泌的物质或正常使用时可能导致过敏反应的材料。

本器械不含传染性物质。培养物、容器和其他受污染的材料在使用后必须按照生物危害性废物的处理和处置指南进行灭菌。

有关本产品的安全处理和处置方法，请参阅 www.trekds.com/techinfo 网站上提供的 SDS。

干扰物质和限制

1. Sensititre YeastOne 药敏板 YO10 和 ITAMYUCC 仅适用于念珠菌属。它们不适用于隐球菌属、曲霉菌属和其他快速生长的酵母菌属。也不适用于苛性或生长缓慢的酵母菌，例如组织胞浆菌属或芽生菌属，以及丝状真菌。
2. 由于含氟康唑、阿尼芬净和伏立康唑的药敏板在检测热带念珠菌方面的性能低，热带念珠菌分离株应采用一种替代方法检测。
对 24 小时 Sensititre YeastOne 系统和 48 小时美国临床和实验室标准协会（Clinical and Laboratory Standards Institute，以下简称 CLSI）参考方法进行了比较评估。然而，在 48 小时孵育时难以关联拖尾微生物（白色念珠菌）的终点，因此观测到的错误率较高。CLSI 的官方标准 M27-Ed4 2017 建议，应在 24 小时对临床分离株和质控（Quality Control，以下简称 QC）菌株进行读数。
3. 本质上，真菌和抗真菌药物试验的精确度不如细菌试验。
4. 如需获得更多指导，请参阅 CLSI 关于酵母菌的抗真菌药物敏感性试验——标准 M27。
5. 判断终点的指标是颜色变化，而不是浊度。通过对某些念珠菌属“拖尾”所致效应的判读，这一特点有助于解决一些问题。与血液和其他无菌体液相比，拖尾在分离株中更常见。
6. 如果对照孔的颜色未从蓝色完全变为粉红色，请勿在 24 小时进行读数。
7. 仅使用 Sensititre 系统认可的酵母菌敏感性接种物肉汤。使用其他肉汤可能会导致错误。
8. 与任何体外药敏试验方法一样，试验结果应与患者对方治疗的临床反应相关联。
9. 卡泊芬净的 MIC 与使用卡泊芬净后治疗结局的相关性尚未完全确定⁹。
10. 报告 Sensititre 产品得出的结果时，必须使用 Sensititre 系统支持的仪器，即一种简单的镜面判读仪 Sensititre Vizion。不支持使用任何其他系统。
11. 在浓度 $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ 的情况下，伊曲康唑偶尔会从溶液中析出。这可能导致受影响的孔表现出生长并变成粉红色。

抗真菌药物的局限性

抗真菌药物	微生物名称	局限性
卡泊芬净	念珠菌属，不包括光滑念珠菌	由于耐药分离株的检测数量不足，含卡泊芬净的 Sensititre 药敏板在测定耐药菌株方面的能力目前尚未得到证实。
氟康唑	光滑念珠菌	由于耐药分离株的检测数量不足，含氟康唑的 Sensititre 药敏板在测定耐药菌株方面的能力目前尚未得到证实。
卡泊芬净	热带念珠菌和白色念珠菌	与 CLSI 肉汤微量稀释参考方法相比，在卡泊芬净稀释范围为 0.015-16 µg/mL 的情况下，Sensititre YeastOne 药敏试验系统对热带念珠菌、白色念珠菌和光滑念珠菌得出的 MIC 值倾向于完全一致或至少高一个双倍稀释度。
阿尼芬净 氟康唑 伏立康唑	热带念珠菌	在对照研究中，含阿尼芬净、氟康唑和伏立康唑的 Sensititre YeastOne 药敏试验系统的性能差，因此热带念珠菌分离株应采用一种替代方法检测。
卡泊芬净	光滑念珠菌	由于分类错误导致 Sensititre YeastOne 药敏试验系统的分类一致性与 CLSI 抗真菌肉汤微量稀释法相比低于 90%，并且为了避免潜在的假性敏感结果，在 MIC ≤ 0.12 µg/ml 的情况下，应在报告卡泊芬净和光滑念珠菌的结果之前，先使用一种替代方法检测。
伊曲康唑	葡萄牙念珠菌	含伊曲康唑的药敏试验系统在检测葡萄牙念珠菌方面的性能低 (EA <90%)，因此葡萄牙念珠菌分离株应使用一种替代方法检测。

严重事件

如果发生与本器械相关的任何严重事件，应报告给制造商和用户和/或患者所在的相关管理机构。

标本处理和制备

标本应使用标准程序采集、运输、储存，并在初次分离培养基上铺板¹。

接种程序

使用之前，请让所有肉汤恢复至室温。从包装袋中取出后，应在 5 小时内对药敏板接种。推荐的最终微生物密度约为 $1.5 - 8 \times 10^3$ CFU/ml。Sensititre 系统认可的肉汤经过性能测试，可与 Sensititre 系统配合使用。Sensititre YeastOne 系统目前仅适用于使用 CLSI 参考方法和标准管测定 MIC。

第 1 步和第 2 步应在 15 分钟内完成。

1. 从酵母菌分离株的 24 小时纯培养物（沙氏葡萄糖琼脂）中挑取几个直径 >1 mm 且分离良好的菌落，并在去矿物质水中乳化。充分混合，确保悬液均匀，必要时可以进行涡旋混合。如果出现结块，则可以在调整密度前让悬液沉降。通过目测或使用 Sensititre 浊度仪将悬液浊度调节至 0.5 麦氏标准。
2. 将 20 μ l 悬液转移至 11 ml Sensititre YeastOne 肉汤中，得到 $1.5 - 8 \times 10^3$ CFU/ml 的最终接种物。
3. 在完成第 2 步的 15 分钟内，使用以下一种方法将 100 μ l 最终悬液转移至 Sensititre YeastOne 药敏板：
 - a. **Sensititre AIM** - 用一次性 Sensititre 加样头替换试管盖，并根据 Sensititre AIM 用户手册对药敏板接种。在药敏板加样 30 秒内，将试管组合加样头从 Sensititre AIM 系统中取出，并倒置存放在样品架上或丢弃。
 - b. **手动移液器** - 将肉汤倒入无菌种槽中，并使用合适的移液器接种药敏板。
4. 应从阳性对照孔中取出 10 μ l，并在沙氏葡萄糖琼脂（Sabouraud Dextrose Agar，以下简称 SDA）上铺板，以检查菌落计数。如果接种物正确，将产生 15-80 个菌落。
5. 用粘合密封膜盖住所有孔。使用粘合密封膜时请避免折痕。

孵育

接种后，在 35°C 条件下，将药敏板置于无 CO₂ 的孵育器中孵育 24 至 25 小时。孵育温度超过 35°C 可能会影响性能。

分析结果的判读和计算

可以使用手工镜面判读仪或使用 Sensititre Vizion 系统在正常的实验室照明下目测读取药敏板（更多信息请参阅 Sensititre Vizion 系统用户手册）。

随着比色生长指示剂从蓝色（阴性）变为粉红色（阳性），将明显观察到抗真菌药物溶液中有酵母菌生长。有些酵母菌属可能不会使指示剂完全变为粉红色，而是显示一种过渡性的紫色。某些微生物可能会在氟康唑、伊曲康唑、酮康唑、泊沙康唑和伏立康唑中显示出紫色。颜色变为粉白色或紫色表示生长良好，应判读为阳性。

结果判读：

1. 孵育后检查阳性生长孔。
2. 如果阳性生长孔呈粉红色，则可以确定抗真菌药物的终点。如果阳性生长孔呈蓝色或淡紫色，则重新孵育 24 小时后再次检查。

请勿读取 Sensititre YeastOne 药敏板的浊度，只读取颜色变化。

3. MIC 是一种抗真菌药物显著抑制微生物生长的最低浓度，可通过从粉红色变为蓝色的颜色变化而进行检测。

结果判读

表 4. 举例说明典型的试验结果及其判读方法

孔浓度 $\mu\text{g/ml}$	1	2	4	8	16	32	P = 粉红色：指示阳性生长 B = 蓝色：指示阴性生长
A.	P	P	P	B	B	B	典型生长模式；MIC 终点为 8 $\mu\text{g/ml}$ 。
B.	P	P	P	P	P	P	在所有孔中均有生长；MIC 终点为 >32 $\mu\text{g/ml}$ 。
C.	B	B	B	B	B	B	在所有孔中均无生长；MIC 终点为 ≤ 1 $\mu\text{g/ml}$ 。
D.	P	P	P	B	P	P	“跳孔”。MIC 终点为 >32 $\mu\text{g/ml}$ 。 当任一侧的孔有生长时，请忽略 “跳孔”。如果一列中出现不止一个 “跳孔”，则试验结果无效。*
E.	P	P	B	B	P	P	两个“跳孔”。应重复检测。*

*如果谨慎操作，这些情况并不常见。

如果测定念珠菌属 MIC 所用标度得到的结果在两个类别之间，则认为属于下一个较高类别。因此，氟康唑 MIC 为 12.5 $\mu\text{g/mL}$ 的分离株将归类为剂量依赖性敏感（susceptible-dose dependent，以下简称 S-DD）(19)。

读数说明

两性霉素 B

对于 24 小时条件下的两性霉素 B，终点通常很好确定，能够防止任何可辨颜色变化的最低药物浓度被读取为 MIC。使用两性霉素 B 通常不会遇到拖尾终点。

与阳性生长孔相比，呈现出明显颜色变化的第一个孔即为 MIC。



氟胞嘧啶和唑类抗真菌药物

在使用含氟胞嘧啶和唑类抗真菌药物（例如氟康唑、伊曲康唑、酮康唑、伏立康唑和泊沙康唑）的药敏板检测白色念珠菌、光滑念珠菌和热带念珠菌时，由于拖尾生长，终点通常不太明确，且可能是变异性的重要来源。在持续出现轻微颜色变化时会发生拖尾，通常，对高于 MIC 的所有药物浓度，拖尾情况完全相同。与阳性生长对照孔相比，应把呈现出较弱颜色变化（显示生长减少 50%）的第一个孔读取为 MIC。

敏感性明确的参考菌株也可能对培训人员有所帮助。假设 *克柔念珠菌* 分离株对氟康唑具有内在耐药性，则不应对其 MIC 进行判读¹。所报告的试验结果应附有备注。

拖尾终点：持续存在轻微颜色变化时会出现拖尾终点，通常这种情况在若干种浓度下完全相同。与阳性生长对照孔（完全变为粉红色的孔）相比，应把呈现出较弱颜色变化的第一个孔读取为 MIC。



棘白菌素

MIC 终点应在 35°C 下孵育 24 小时后确定。与阳性对照孔相比，应把呈现出较弱颜色变化的第一个孔读取为 MIC。



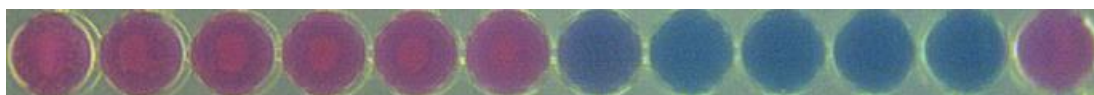
伊曲康唑

伊曲康唑偶尔能在 $\geq 4 \mu\text{g/ml}$ 的浓度下沉淀（孔用黑色方框突出显示）。这可能导致受影响的孔表现出生长并变成粉红色。



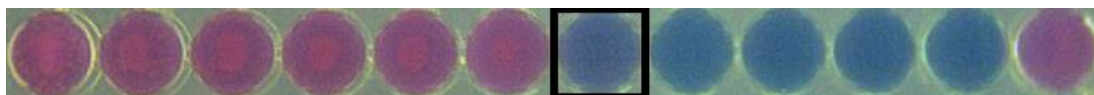
在 Sensititre YeastOne 药敏板上，可能偶尔在较高浓度的伊曲康唑中观察到意外生长，导致这些孔变为粉红色。

这种矛盾效应称为 Eagle 现象¹⁸，指的是抗菌药物浓度升高导致了存活细菌数量增加。这可能归因于相关结合受体的自身拮抗作用（例如，对于青霉素而言，受体是青霉素结合蛋白）。



分辨率

除非在所有其他浓度的伊曲康唑中均有生长，否则应忽略在高浓度下的生长。在下面的例子中，用黑色方框突出显示的孔是应记录 MIC 结果的位置。



如果您有任何其他问题或疑虑，请通过电话联系技术支持部门：+44 (0) 1256 694287 | 传真：+44 (0) 1256 463388，或按照下方的联系人电子邮箱地址列表发送电子邮件。

污染和跳孔

请注意，在蓝色孔（无生长）之间出现粉红色孔（有生长）可能表明存在污染。为了查明原因，可对孔中的内容物进行传代培养。

一系列粉红色生长孔中出现一个蓝色孔，表示存在“跳孔”，应予以忽略。MIC 读取位置应高于所有跳孔。如果跳孔不止一个，则不应报告该抗真菌药物的结果。

质控程序

质控测试的频率应符合当地指南¹。

应在合适的培养基上培养接种物，以检查纯度。如果检测到混合培养物，则测试结果无效。

所有 Sensititre 药敏板均包含阳性对照孔。除非阳性对照孔有明显生长，否则测试结果无效。

对照材料/菌株

建议使用美国典型培养物保藏中心（American Type Culture Collection，以下简称 ATCC™）的以下培养物进行用户质控：

- 东方伊萨酵母（克柔念珠菌）- ATCC 6258
- 近平滑念珠菌 - ATCC 22019

如果 QC 结果不在预期范围内，则不应报告临床结果。

在进行用户质控测试时，应按照上一节所述，对 Sensititre YeastOne 药敏板进行接种、读取和判读。

表 5. 根据微量肉汤稀释法 CLSI M27² 得出的两种质控菌株 24 小时和 48 小时 MIC 推荐限值。对不同于已公布质控范围或额外添加的范围标有下划线。

抗真菌药物	东方伊萨酵母 ATCC6258™		近平滑念珠菌 ATCC 22019™	
	24 小时	48 小时	24 小时	48 小时
5-氟胞嘧啶	4-16	8-32	<u>0.12-0.5*</u>	0.12-0.5
两性霉素 B	0.5-2	1-4	0.25-2	0.5-4
阿尼芬净	0.03-0.12	-	0.25-2	-
卡泊芬净	0.12-1	0.25-1	0.25-1	0.5-4
氟康唑	8-64	16-128	0.5-4	2-8
伊曲康唑	0.12-1	0.25-1	0.06-0.5	0.06-0.5
米卡芬净	0.06-0.5*	0.12 – 0.5	0.5-2	0.5-4
泊沙康唑	0.06-0.5	0.12-1	0.03-0.25	0.06-0.25
伏立康唑	0.06-0.5	0.12-1	0.015-0.12	0.03-0.25
艾沙康唑	0.06-0.5	0.12-1.0*	0.015-0.06	0.03-0.12*

* Sensititre 范围（使用 CLSI M27 方法进行产品开发时，公司内部生成的 QC 范围）

预期 QC 值见 CLSI M27M44S¹⁹。

有关结果判读的更多信息，请参阅 CLSI¹。

具体性能特点

手动读取的药敏板在设计上可提供与 CLSI 微量肉汤参考方法相当的性能。相当的性能是指在参考 MIC¹ 的双倍稀释度范围内，基本一致性和分类一致性 >90%。

测量精度：

在 Sensititre 药敏板上检测 QC 微生物的基本一致性见表 6。如果结果与模型 MIC 或冷冻参考结果相差不超过 2 个孔（连续稀释），则可报告达到基本一致性。

表 6： Sensititre 药敏板中 QC 微生物的基本一致性

抗菌药物	测试数量	表现出基本一致性的结果
两性霉素 B	126	126 (100%)
阿尼芬净	154	154 (100%)
卡泊芬净	32	32 (100%)
氟康唑	123	123 (100%)
5-氟胞嘧啶	155	155 (100%)
伊曲康唑	135	135 (100%)
米卡芬净	22	22 (100%)
泊沙康唑	32	32 (100%)
伏立康唑	40	40 (100%)
艾沙康唑	144	144 (100%)

可重复性和重现性：

在三个不同时间段进行的每日重复测试汇总于表 7。与 CLSI M27M44S QC 范围或内部 Sensititre QC 范围相比，Sensititre 药敏板的可重复性和重现性 ≥95%。

表 7： 三个不同时间段内 Sensititre 药敏板的手动读取数据

抗菌药物	重复次数	落入 CLSI M27M44S 或内部 Sensititre QC 范围内的结果
两性霉素 B	67	67 (100%)
阿尼芬净	35	35 (100%)
卡泊芬净	112	112 (100%)
氟康唑	53	53 (100%)
5-氟胞嘧啶	35	35 (100%)
伊曲康唑	35	35 (100%)
米卡芬净	30	30 (100%)
泊沙康唑	96	96 (100%)
伏立康唑	35	35 (100%)
艾沙康唑	144	144 (100%)

分析灵敏度

与 CLSI M27M44S QC 范围或内部 Sensititre 范围相比，在 Sensititre 药敏板上对 QC 微生物进行的手动药敏试验显示的一致性 ≥95%。

表 8： 对 QC 微生物进行手动药敏试验的结果

抗菌药物	试验数量	落入 CLSI M27M44S 或内部 Sensititre QC 范围内的结果
两性霉素 B	126	126 (100%)
阿尼芬净	154	154 (100%)
卡泊芬净	112	112 (100%)
氟康唑	123	123 (100%)
5-氟胞嘧啶	155	155 (100%)
伊曲康唑	135	135 (100%)
米卡芬净	100	100 (100%)
泊沙康唑	112	112 (100%)
伏立康唑	115	115 (100%)
艾沙康唑	144	144 (100%)

分析特异性

本器械采用纯培养物且无任何交叉反应和/或内源性/外源性干扰源，因此分析特异性测试不适用。

检出限

该药敏板的检出限是 1 个对数稀释度，以 µg/ml 为单位（例如 0.03 – 0.06）。处于这些数值之间的浓度均无法检出。

表 9：使用 CLSI 参考方法和折点评估含有以下抗真菌药物的 Sensititre 药敏板的临床性能特征

抗菌药物	检测的 分离株数量	分类 一致性 CLSI	分类 一致性 (%) CLSI	VME %	ME %	mE%
两性霉素 B	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*
阿尼芬净 ^a	449	424	99.3%	0.0	0.0	3.0
卡泊芬净	573	572	99.8%	0.0	1.0	0.0
氟康唑 ^a	1019	667	92.6%	1.89	0.92	3.53
5-氟胞嘧啶	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*
伊曲康唑	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*
米卡芬净	315	314	99.7	0.0	0.0	0.3
泊沙康唑	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*
伏立康唑 ^a	298	204	94.7%	5.0 ^b	0.0	4.7
艾沙康唑	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*	不适用*

*CLSI M60（现为 M27M44S）第 2 版折点（Breakpoint，以下简称 BP）不再可用。

a – 含氟康唑、伏立康唑和阿尼芬净药敏板在检测热带念珠菌方面的性能低，因此热带念珠菌分离株应采用一种替代方法检测。

b – 拖尾终点导致白色念珠菌检测存在一个重大错误，认为其与参考方法的错误判读相关，因此被视为随机错误。

c – 所述抗真菌药物的性能特征仅根据 CLSI 监管标准进行评估。可用数据不充分或不兼容，无法确定对 EUCAST 方法的依从性。

还收集了另外一个来源的临床数据（2015 年至 2021 年），其性能特征如下文表 10 所示。最初是为了根据 EUCAST 方法评估 Sensititre 药敏板上的抗真菌药物，但 EUCAST 指南和有关经组织处理的药敏板的方法发生变更，导致数据不适用于此目的。所得数据也使用 CLSI 方法和参考方法进行了评估。本次评估的结果见下文。

表 10. 根据 2015-2021 年使用 CLSI 参考方法和折点评估得出的含有以下抗真菌药物的 Sensititre 药敏板的临床性能特征

抗菌药物	检测的 分离株数量	分类 一致性	分类 一致性 (%)	基本 一致性	基本 一致性 (%)
阿尼芬净 ^a	1150	940	95.6	1072	93.2
卡泊芬净	499	401	93.9	493	98.8
氟康唑 ^a	1150	727	91.9	1116	97.0
5-氟胞嘧啶	498	不适用*	不适用*	493	99.0
伊曲康唑	1148	不适用*	不适用*	1082	94.3
米卡芬净	651	545	98.0	646	99.2
泊沙康唑	499	不适用*	不适用*	481	96.4
伏立康唑 ^a	1151	674	89.2 ^b	1112	96.6
艾沙康唑	499	不适用*	不适用*	484	97.0

*CLSI M60 (现为 M27M44S) 第 2 版折点 (BP) 不再可用。

a – 含氟康唑、伏立康唑和阿尼芬净药敏板在检测*热带念珠菌*方面的性能低，因此*热带念珠菌*分离株应采用一种替代方法检测。

b – 伏立康唑的分类一致性略低于 >90% 的 CLSI 标准，因为药敏板对*热带念珠菌*分离株的性能差 (74.3%)，导致该抗真菌药物的总体分类一致性 (Categorical Agreement, 以下简称 CA) 降低。*热带念珠菌*分离株在使用伏立康唑进行检测时存在局限性，因此该 CA 是合理的。

制造商联系信息

如需获取最新信息，请访问 www.trekds.com\techinfo，或联系赛默飞世尔科技公司微生物学技术服务部。



TREK Diagnostic Systems Ltd
Units 17-19,
Birches Industrial Estate,
East Grinstead,
West Sussex RH19 1XZ,
英国
电话: +44 13423 18777



ATCC Licensed Derivative® 徽标、ATCC Licensed Derivative® 文字标记和 ATCC 目录标记均为 ATCC 的商标。赛默飞世尔科技公司已获得授权，可以使用上述商标，并销售 ATCC® 培养物衍生产品。

© 2021 赛默飞世尔科技公司保留所有权利。ATCC 是 ATCC 的一个商标。所有其他商标都是赛默飞世尔科技公司及其子公司的财产。

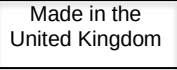


2797

技术支持电子邮箱地址

奥地利	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
比利时	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
捷克共和国	mikrobiologie.tech.podpora.cz@thermofisher.com
丹麦	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
法国	microbiologie.techsupport.fr@thermofisher.com
芬兰	mikrobiologia.tekninentuki.fi@thermofisher.com
德国	microbiology.techsupport.de@thermofisher.com
意大利	microbiologia.supportotecnico.it@thermofisher.com
荷兰	microbiology.techsupport.benelux@thermofisher.com
挪威	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
西班牙	microbiologia.soporte.es@thermofisher.com
瑞典	microbiology.techsupport.nordic@thermofisher.com
英国技术支持	microbiology.techsupport.uk@thermofisher.com

符号术语表

符号/标签	含义
	制造商
	体外诊断医疗器械
	温度限制（储存温度）
	批号/批次号
	目录编号
	请勿重复使用
	查阅使用说明
	内容物足以进行 10 次试验
	有效期
	开封后有效期
	若在美国，请注意：美国联邦法律限制本器械 仅可由医师销售或遵医嘱销售
	如果包装损坏，请勿使用。查阅使用说明。
	避免日晒
	欧洲共同体授权代表
	进口商 - 指明将医疗器械进口到当地的实体。 适用于欧盟
	英国制造

参考文献

- (1) CLSI M27. Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts (2017 or latest edition). CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.
- (2) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicentre comparison of the Sensititre YeastOne® Colorimetric Antifungal Plate with the NCCLS, M27-A Reference Method for Testing Clinical Isolates of Common and Emerging *Candida* spp., and other Yeasts and Yeast-like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology*. **37**: 591-595.
- (3) Espinel-Ingroff A *et al.* (2002). Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel for testing voriconazole against Isolates of *Candida* spp., a comparison with the NCCLS M27-A microdilution reference method. *Clinical Microbiology and Infection*. **8**: Suppl 1. Abstract 0125.
- (4) Davey K G *et al.* (1998). Comparison of a new commercial colorimetric microdilution method with a standard method for in-vitro susceptibility testing of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*., *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. **42**: 439-444.
- (5) Linares M *et al.* (2005). Susceptibility of filamentous fungi to voriconazole tested by two microdilution methods. *Journal of Clinical Microbiology*. **43**: 250-253.
- (6) Kartsonis N *et al.* (2005). Caspofungin susceptibility testing of isolates from patients with esophageal candidiasis or invasive candidiasis: relationship of MIC to treatment outcome. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 3616-3623.
- (7) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing of five antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases*. **50** :113-117.
- (8) Pfaller M A *et al.* (2004). Clinical evaluation of the Sensititre YeastOne® antifungal susceptibility testing of the new triazoles voriconazole, posiconazole and ravuconazole. *Journal of Clinical Microbiology*. **42**: 4577-4580.
- (9) Espinel-Ingroff A *et al.* (2004). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the NCCLS, M27-A2 reference method for testing new antifungal agents against clinical isolates of *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 718- 721.
- (10) Linares M *et al.* (2004). Comparison of two microdilution methods for testing susceptibility of *Candida* spp. to voriconazole. *Journal of Clinical Microbiology* **42**: 899-902.
- (11) Espinel-Ingroff A *et al.* (1999). Multicenter comparison of the Sensititre YeastOne® colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory Standards M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other Yeasts and Yeast-Like Organisms. *Journal of Clinical Microbiology* **37**: 591-595.
- (12) Barry A L *et al.* (2000). Quality control limits for broth microdilution susceptibility tests of ten antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **38**: 3457-3459.
- (13) Canton E *et al.* (2005). Sensititre YeastOne® Caspofungin susceptibility testing of *Candida* clinical isolates: Correlation with results of NCCLS, M27-A2 multicenter study . *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **49**: 1604 - 1607.
- (14) Holliday N M *et al.* (2007) A reproducibility study with two echinocandins using the Sensititre YeastOne® susceptibility plate. *American Microbiology Abstract* **C-191**.
- (15) Torres-Nabona M *et al.* (2007) *In Vitro* activities of amphotericin B, caspofungin, itraconazole, posaconazole, and voriconazole against 45 clinical isolates of Zygomycetes: Comparison of NCCLS, M38-A, Sensititre_YeastOne® and the Etest. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **51**: 1126 -1129.

- (16) Espinel-Infgraff A (2006). Comparison of three commercial assays and a modified disk diffusion assay with two broth microdilution reference assays for testing Zygomycetes, *Aspergillus* spp, *Candida* spp, and *Cryptococcus neoformans* with posaconazole and Amphotericin B. *Journal of Clinical Microbiology* **44**: 3616-3622
- (17) Alexander B D *et al.* (2007). Comparative evaluation of Etest and Sensititre YeastOne® panels against the Clinical Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. *Journal of Clinical Microbiology* **45**: 698-706.
- (18) Eagle H. (1948). A paradoxical zone phenomenon in the bactericidal action of penicillin *in vitro*. *Science*, 1948; 107: 44-45
- (19) CLSI M27M44S. Performance Standards For Antifungal Susceptibility Testing Of Yeasts – 3rd Edition. CLSI (Clinical & Laboratory Standards Institute), 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087, US.