



E1-831-040



# Gebrauchsanweisung

## MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC

Mikrotitrationsplatte für die automatisierte oder manuelle  
Empfindlichkeitsprüfung von klinisch relevanten Hefen und *Cryptococcus* spp.

Zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum



Sprache: de

## Dokumentenchronik

Titel:	Gebrauchsanweisung MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC
Revision:	Revision C (August 2022)
Erste Revision:	April 2020

In der nachstehenden Tabelle sind wichtige Änderungen gegenüber der Vorgängerversion dieses Dokuments aufgeführt.

Version	Abschnitt	Änderungen
C	Titelseite	Veraltete Dokumentennummer entfernt
C	10	Categorical Agreement für Itraconazol korrigiert

# Inhaltsverzeichnis

<b>Dokumentenchronik</b>	<b>2</b>
<b>Inhaltsverzeichnis</b>	<b>3</b>
<b>1 Verwendungszweck</b>	<b>4</b>
<b>2 Produktbeschreibung/Materialien</b>	<b>5</b>
<b>3 Zusammensetzung der Medien</b>	<b>6</b>
<b>4 Haltbarkeit / Lagerung / Entsorgung</b>	<b>7</b>
<b>5 Vorsichtsmaßnahmen</b>	<b>8</b>
<b>6 Testdurchführung bei nicht anspruchsvollen Hefen</b>	<b>9</b>
6.1 Probenvorbereitung	9
6.2 Herstellung des Inokulums für nicht anspruchsvolle Hefen	9
6.3 Beimpfung	9
6.4 Versiegelung und Inkubation	10
6.5 Ablesung	10
6.6 Auswertung	10
6.7 Bewertung	11
6.8 MHK-Wert	11
6.9 Springer	12
<b>7 Testdurchführung bei anspruchsvollen Hefen und Cryptococcus spp.</b>	<b>13</b>
7.1 Probenvorbereitung	13
7.2 Herstellung des Inokulums für anspruchsvolle Hefen	13
7.3 Herstellung des Inokulums für Cryptococcus spp.	14
7.4 Beimpfung	14
7.5 Versiegelung und Inkubation	14
7.6 Ablesung	14
7.7 Auswertung	14
7.8 Bewertung	15
7.9 MHK-Wert	15
7.10 Springer	15
<b>8 Technische Hinweise</b>	<b>16</b>
<b>9 Qualitätskontrolle</b>	<b>17</b>
<b>10 Klinische und analytische Performancedaten</b>	<b>18</b>
<b>11 Gewährleistung</b>	<b>19</b>
<b>12 Limitierung</b>	<b>20</b>
<b>13 Erläuterungen der Symbole</b>	<b>21</b>
<b>14 Literatur</b>	<b>22</b>
<b>15 Kurzanleitung MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC für nicht anspruchsvolle Hefen</b>	<b>23</b>
<b>16 Kurzanleitung MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC für anspruchsvolle Hefen und Cryptococcus spp.</b>	<b>24</b>
<b>17 Hersteller</b>	<b>25</b>

# 1 Verwendungszweck

Die MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatte ist ein *In-vitro*-Diagnostikum für die antimykotische Empfindlichkeitsprüfung von klinisch relevanten Hefen und *Cryptococcus* spp. in MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose. Die Testplatte dient zur Detektion von Resistenzen gegenüber Antimykotika. Die Empfindlichkeitsprüfung basiert auf der Rehydratisierung von Antimykotika durch Zugabe einer standardisierten Hefe-/*Cryptococcus* spp.-Suspension. Die MHK-Bestimmung erfolgt gemäß den Richtlinien des EUCAST.

Das Wachstum von klinisch relevanten Hefen und *Cryptococcus* spp. wird durch einen Farbumschlag von Blau nach Pink des Redoxindikators (AST-Indicator), der dem Testmedium zugegeben wird, angezeigt. Die Zugabe von Methylene blue solution erleichtert die Ablesung von Antimykogrammen bei Hefen mit Trailingeffekten.

Die Messung der MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatte erfolgt mit Hilfe von validierten Photometern und die Auswertung der Ergebnisse durch die MICRONAUT Software. Alternativ kann die Platte visuell abgelesen und die MHK-Werte anhand der aktuellen EUCAST Grenzwerte ausgewertet werden. Die Interpretation der Testergebnisse sollte durch qualifiziertes Personal erfolgen. Die Ergebnisse dienen lediglich als Hilfestellung für die gezielte Antimykotikatherapie.

## 2 Produktbeschreibung/Materialien

### Packungsinhalt

Eine Verpackungseinheit ermöglicht die Durchführung von 40 Empfindlichkeitsprüfungen und enthält:

- 40 Platten MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC. Pro Mikrotitrationsplatte kann 1 Test durchgeführt werden. Die Antimykotikakonzentrationen sind dem produktspezifischen Auswerteprotokoll zu entnehmen, siehe Abschnitt 6.7.
- Abklebefolien (unperforiert)

### Zusätzlich erforderliche Reagenzien und Materialien

- MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose (Artikelnr. E2-324-020); Hersteller: Bruker Daltonics GmbH & Co. KG
- AST-Reagent Kit (Artikelnr. E2-323-001)
- NaCl 0,9 %
- 1-Kanal-Reservoir
- 8-Kanal-Pipette (100-1200 µL) inkl. Pipettenspitzen
- Photometer (validiert für MICRONAUT-Systeme)
- MICRONAUT6 Software (Artikelnr. U8-305-008)

**Hinweis** Die Artikelnummern der Reagenzien und Materialien sind über die lokalen Distributoren erhältlich.

### Zusätzliche Labormaterialien

- Brutschrank
- McFarland Standard 0,5 oder Densitometer
- Sabouraud-Glucose (Dextrose) (4 %)-Agar (ohne Zusatz)

**Hinweis** Die Verwendung eines anderen Agarmediums als Sabouraud-Glucose (Dextrose) (4 %)-Agar (ohne Zusatz) erfordert die Validierung durch den Anwender.

- Kartoffel-Dextrose-Agar, siehe Abschnitt 9.
- Impfösen
- Markierstift
- Verstellbare Pipetten, Bereich 0,5-10 µL, 20-200 µL, 1000-5000 µL

### 3 Zusammensetzung der Medien

Medien	Bestandteile
NaCl 0,9 %, 1 L	Natriumchlorid
MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose <sup>1</sup>	RPMI-1640
20 Röhrchen à 11,5 mL (± 0,5 mL)	MOPS
	Glucose
AST-Indicator <sup>1</sup>	Resazurin
Röhrchen à 4,4 mL (Bestandteil des AST-Reagent Kit)	
Methylene blue solution <sup>1</sup>	Methylenblau
Röhrchen à 4,4 mL (Bestandteil des AST-Reagent Kit)	

**Hinweis** Die Bestimmung valider MHK-Werte mit dem Testsystem MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC erfordert die ausschließliche Verwendung des von Bruker Daltonics GmbH & Co. KG hergestellten MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose sowie des AST-Reagent Kit. Die Artikelnummern der Reagenzien und Medien sind über die lokalen Distributoren erhältlich.

<sup>1</sup>Zusammensetzung vertraulich

## 4 Haltbarkeit / Lagerung / Entsorgung

Die MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatte ist in der Originalverpackung bei 15 bis 25 °C bis zum angegebenen Haltbarkeitsdatum verwendbar. MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose ist bei 2 bis 25 °C und das **AST-Reagent Kit** bei **2 bis 8 °C** zu lagern. Die Haltbarkeit des AST- Reagent Kit (ungeöffnet/geöffnet) und des Mediums ist der Produktkennzeichnung zu entnehmen. Ansonsten sind die auf den Produkten angegebenen Lagerbedingungen einzuhalten.

Transport- und Umverpackungen der MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatte sind gemäß den länderspezifischen Richtlinien zur Abfallentsorgung zu entsorgen.

Die Entsorgung verwendeter MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatten erfolgt gemäß Abschnitt 5 .

## 5 Vorsichtsmaßnahmen

- Nur zur *In vitro*-Diagnostik verwenden.
- Die Reagenzien nicht mit dem Mund pipettieren.
- Nur für die sachgemäße Verwendung bestimmt.
- Proben, Hefe- bzw. *Cryptococcus* spp.-Kulturen und die beimpften Testplatten müssen als potentiell infektiös und unter Beachtung entsprechender Vorsichtsmaßnahmen durch entsprechend qualifiziertes Fachpersonal sachgemäß behandelt werden. Während der gesamten Testdurchführung muss aseptisch gearbeitet werden. Informationen finden Sie in der aktuellen Version von „BioSafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publikation (CDC)“ oder in den entsprechenden nationalen gesetzlichen Vorgaben.
- Den eingeschweißten Testplatten ist ein Indikatorbeutel mit Trockenmittel („Blaugel“) zugefügt. Das Trockenmittel enthält Kobaltchlorid. Bitte den Indikatorbeutel nicht beschädigen. Ein Farbumschlag des Indikatorbeutels von blau nach rosa kann ein Anzeichen für Feuchtigkeitseintritt (z. B. durch Beschädigung der Primärverpackung [Aluminiumverbundfolie]) sein. Bitte diese Platte nicht verwenden.
- Nach Ablesung und Auswertung der Tests müssen alle Proben, beimpfte und kontaminierte Produkte (Pipettenspitzen, Reservoirs und Testplatten) autoklaviert, verbrannt oder mit einer fungiziden Desinfektionslösung behandelt werden, bevor sie entsorgt werden.
- Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanweisung ist unbedingt erforderlich. Jede Abweichung kann die Qualität der Ergebnisse beeinflussen.
- Die Interpretation der Testergebnisse sollte durch geschultes, auf dem Gebiet der Mykologie erfahrenes Personal erfolgen. Der klinische Hintergrund, die Probenherkunft, die Kolonie- und mikroskopische Morphologie sowie das Identifizierungsergebnis müssen bei der Interpretation der Ergebnisse berücksichtigt werden.



## 6 Testdurchführung bei nicht anspruchsvollen Hefen

### 6.1 Probenvorbereitung

- Ein Röhrchen mit 2-5 mL NaCl 0,9 %, pH 5,5–6,5, zur Herstellung einer Hefesuspension gemäß McFarland Standard 0,5 bereitstellen.
- Ein Röhrchen mit 4 mL NaCl 0,9 %, pH 5,5–6,5, zur Herstellung der 1:20 Verdünnung bereitstellen
- Ein Röhrchen mit 11,5 mL MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose bereitstellen. Bei Lagerung des Mediums im Kühlschrank muss das Medium vor Benutzung ausreichend im Brutschrank bei 35 bis 37 °C temperiert werden. Unmittelbar vor dem Testansatz MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose wie folgt supplementieren:
  - **Photometrische Ablesung:** mit je 50 µL AST-Indicator und je 50 µL Methylene blue solution supplementieren.
  - **Visuelle Ablesung:** mit je 100 µL AST-Indicator und je 50 µL Methylene blue solution supplementieren.

### 6.2 Herstellung des Inokulums für nicht anspruchsvolle Hefen

- Mehrere einzeln liegende Kolonien einer 24 Stunden alten und bei 30° C inkubierten Reinkultur vom Sabouraud-Glucose (Dextrose) (4 %)-Agar (ohne Zusatz) abnehmen.
- Die Kolonien in 2–5 mL NaCl 0,9 % gut homogenisieren, bis die Trübung einem McFarland Standard von 0,5 entspricht (Hefesuspension).
- Herstellung einer **1:20 Verdünnung**: 200 µL der Hefesuspension in 4 mL NaCl 0,9 % pipettieren und gut homogenisieren.
- Herstellung einer **1:50 Verdünnung**: 200 µL der 1:20 Verdünnung in 11,5 mL MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose pipettieren und gut homogenisieren.
- **Alternative Herstellung des Inokulums für nicht anspruchsvolle Hefen:**
  - 10 µL der Hefesuspension gemäß McFarland Standard 0,5 in 11,5 mL MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose überführen und gut homogenisieren.

### 6.3 Beimpfung

- MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatte max. 30 Minuten vor Beimpfung aus der Einzelverpackung entnehmen und den Indikatorbeutel werfen.
- Die Testplatte beschriften.
- Das mit einem nicht anspruchsvollen Hefeisolat inokulierte MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose, siehe Abschnitt 6.2, in ein 1-Kanal-Reservoir geben.
- Die Beimpfung der Mikrotitrationsplatte erfolgt manuell mit der 8-Kanal-Pipette mit 100 µL pro Kavität.

## 6.4 Versiegelung und Inkubation

- Nach dem Beimpfen jede Testplatte mit einer unperforierten Abklebefolie verschließen (max. 5 Testplatten stapeln).
- Testplatten in Abhängigkeit des Farbumschlags der Wachstumskontrolle (von blau zu pink) 24–48 Stunden bei 35 bis 37 °C unter aeroben Bedingungen inkubieren.

## 6.5 Ablesung

- Abklebefolien entfernen.
- Testplatten von unten abwischen.
- Ablesung der Testplatten photometrisch oder visuell.

## 6.6 Auswertung

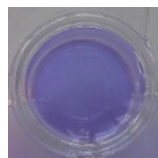
- **Photometrisch:** Die Ergebnisse werden anhand einer photometrischen Messung bei einer definierten Wellenlänge ermittelt. Diese werden mit Hilfe der MICRONAUT Software ausgewertet, interpretiert und auf ihre Plausibilität überprüft, siehe MCN6 Handbuch.

Die Wachstumskontrolle (GC) muss bewachsen (Farbumschlag von blau zu pink), die Negativkontrolle (NGC) muss als negativer kolorimetrischer Standard unbewachsen (kein Farbumschlag = blau) sein. Andernfalls muss der Test wiederholt werden.

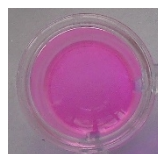
Das Testergebnis wird am Bildschirm oder auf dem Befundausdruck dargestellt. Unter den Testergebnissen können Vermerke erscheinen, die Hinweise auf zu geringes Wachstum geben.

- **Visuell:** Bei der visuellen Ablesung sollten die Ergebnisse auf dem Layout-Ausdruck oder einem Auswerteprotokoll, siehe Abschnitt 6.7, protokolliert werden:

**blau = kein Wachstum**



**pink = Wachstum**



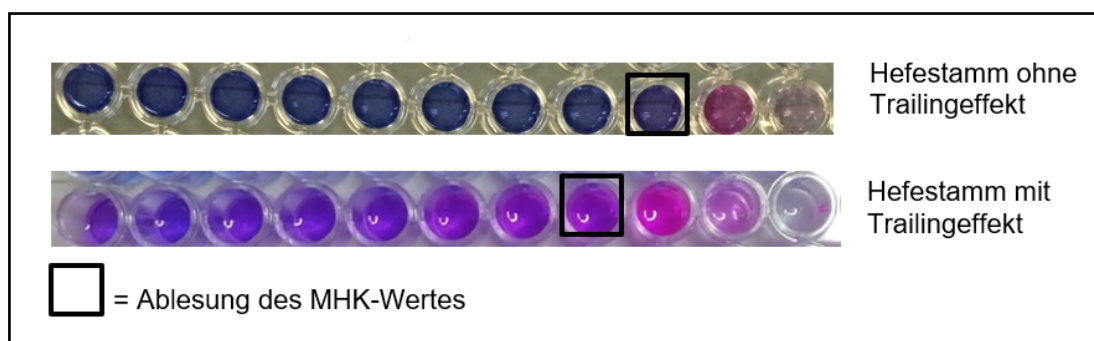
**entfärbt = starkes Wachstum**



Eine Entfärbung der Kavität entsteht durch eine weitere Reduktion des Resorufins zu Dihydroresorufin infolge eines starken mikrobiellen Wachstums.

Bei visuell nicht eindeutig ablesbaren Endpunkten kann als minimale Hemmkonzentration (MHK) die Konzentration festgelegt werden, bei der im Vergleich zur Wachstumskontrolle (GC) noch ein deutlich sichtbarer Blauanteil vorliegt (50 % Wachstumsreduktion).

- **Trailingeffekt:** Das MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testsystem zur MHK-Bestimmung gegenüber Antimykotika wird zusammen mit einem AST-Reagent Kit, das neben dem Resazurin als Redoxindikator Methylene blue solution enthält, verwendet. Die Zugabe von Methylene blue solution zum Testansatz erleichtert die Ablesung von Antimykogrammen durch Unterdrückung des Hintergrundwachstums von Hefen, die zu Trailingeffekten neigen. Dieser Trailingeffekt stellt sich als langsame Zunahme der Azol-Hemmwirkung (z. B. bei Fluconazol, Itraconazol, Posaconazol, Voriconazol, etc.) und somit als eine allmähliche Abnahme des Hefewachstums ohne klaren Endpunkt dar, siehe Abbildung:



Das Auftreten von Trailingeffekten ist stammspezifisch und tritt vermehrt bei schnell wachsenden Hefen (z.B. *Candida albicans*, *Candida glabrata*) auf.

## 6.7 Bewertung

Die zuverlässige Bewertung einer *In-vitro*-Empfindlichkeit erfordert die Korrelation von Erregerempfindlichkeit und Therapieerfolg und sollte durch die Analyse der Ergebnisse klinischer Studien verifiziert sein. Allerdings bestehen bislang noch erhebliche Probleme bei der Korrelationsfindung.

MHK-Grenzwerte sind daher bislang nur für ein begrenztes Spektrum von Antimykotika definiert.

Bei der photometrischen Auswertung der MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatte kommen die in der MICRONAUT Software hinterlegten, jeweils aktuellen MHK-Grenzwerte des EUCAST zur Anwendung.

Für die visuelle Auswertung der MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatte steht ein Protokoll zur Ablesung und Interpretation der MHK gemäß EUCAST Standard zur Verfügung. Dieses wird jährlich aktualisiert. Das Auswerteprotokoll ist nicht Teil dieser Gebrauchsanweisung.

## 6.8 MHK-Wert

Die minimale Hemmkonzentration (MHK) ist definiert als die niedrigste Konzentration eines Antimykotikums, bei der visuell kein Hefewachstum (Blaufärbung des Mediums) festgestellt werden kann.

Voraussetzung für die Bestimmung von MHK-Werten ist eine positive (bewachsene = Farbumschlag nach Pink) Wachstumskontrolle. Die MHK-Bestimmung basiert auf der Bouillon-Dilutionsmethode, die eine quantitative Aussage zur Empfindlichkeit der klinisch relevanten getesteten Hefen bzw. von *Cryptococcus* spp. gegenüber den Antimykotika erlaubt.

## 6.9 Springer

Vereinzelt kann es zum Auftreten von sogenannten „Springern“ innerhalb der Mikrotitrationsplatte kommen. Ein Springer äußert sich durch Wachstum (pinke Kavität) in einer oder mehreren Kavitäten innerhalb einer Antimykotikum-Konzentrationsreihe, während die Vertiefungen der nächst höheren / tieferen Konzentrationen kein Wachstum (blaue Kavität) aufweisen.

## 7 Testdurchführung bei anspruchsvollen Hefen und *Cryptococcus* spp.

Eine MHK-Bestimmung von Hefen und *Cryptococcus* spp. mit dem Mikrodilutionsverfahren erfordert ein ausreichend gutes Wachstum der Stämme in MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose. Um das Wachstum von anspruchsvollen Hefen und *Cryptococcus* spp. in MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose sicherzustellen, kann die Einhaltung spezieller Testbedingungen im Rahmen der MHK-Bestimmung erforderlich sein. Die folgende Empfehlung zur Modifizierung der Testdurchführung gilt für langsam wachsende *non-albicans* - / *non-glabrata* - Stämme und Stämme der Gattung *Cryptococcus* spp.

### 7.1 Probenvorbereitung

- Ein Röhrchen mit 2- 5 mL NaCl 0,9 %, pH 5,5– 6,5, zur Herstellung einer Hefesuspension/*Cryptococcus* spp.-Suspension gemäß McFarland Standard 0,5 bereitstellen.
- Ein Röhrchen mit 4 mL NaCl 0,9 %, pH 5,5–6,5, zur Herstellung der 1:20 Verdünnung bereitstellen.
- Ein Röhrchen mit 11,5 mL MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose bereitstellen. Bei Lagerung des Mediums im Kühlschrank muss das Medium vor Benutzung ausreichend im Brutschrank temperiert werden (anspruchsvolle Hefen: 35 bis 37 °C; *Cryptococcus* spp.: 30 °C). Unmittelbar vor dem Testansatz MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose wie folgt supplementieren:
  - **Photometrische Ablesung:** Zugabe von **50 µL** AST-Indicator
  - **Visuelle Ablesung:** Zugabe von **100 µL** AST-Indicator

**Hinweis** Es erfolgt keine Supplementierung mit Methylene blue solution!

### 7.2 Herstellung des Inokulums für anspruchsvolle Hefen

- Mehrere einzeln liegende Kolonien einer 24 Stunden alten Reinkultur vom Sabouraud-Glucose (Dextrose) (4 %)-Agar (ohne Zusatz) abnehmen.
- Die Kolonien in 2–5 mL NaCl 0,9 % gut homogenisieren, bis die Trübung einem McFarland Standard von 0,5 entspricht (Hefesuspension).
- Herstellung einer **1:20 Verdünnung**: 200 µL der Hefesuspension in 4 mL NaCl 0,9 % pipettieren und gut homogenisieren.
- Herstellung einer **1:50 Verdünnung**: 200 µL der 1:20 Verdünnung in 11,5 mL MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose pipettieren und gut homogenisieren.
- **Alternative Herstellung des Inokulums für Hefen**
  - 10 µL der Hefesuspension gemäß McFarland Standard 0,5 in 11,5 mL MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose überführen und gut homogenisieren.

### 7.3 Herstellung des Inokulums für *Cryptococcus* spp.

- Mehrere einzeln liegende Kolonien einer 24 Stunden alten und bei 30° C inkubierten Reinkultur vom Sabouraud- Glucose (Dextrose) (4 %)- Agar (ohne Zusatz) abnehmen. Für langsam wachsende Isolate muss die Inkubationszeit gegebenenfalls verlängert werden.
- Die Kolonien in 2–5 mL NaCl 0,9 % gut homogenisieren, bis die Trübung einem McFarland Standard von 0,5 entspricht (*Cryptococcus* spp.-Suspension).
- Herstellung einer **1:20 Verdünnung**: 200 µL der *Cryptococcus* spp.-Suspension in 4 mL NaCl 0,9 % pipettieren und gut homogenisieren.
- Herstellung einer **1:5 Verdünnung**: 2000 µL der 1:20 Verdünnung in 11,5 mL MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose pipettieren und gut homogenisieren.
- **Alternative Herstellung des Inokulums für *Cryptococcus* spp.**
  - 100 µL der *Cryptococcus* spp.-Suspension gemäß McFarland Standard 0,5 in 11,5 mL MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose überführen und gut homogenisieren.

### 7.4 Beimpfung

- MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatte max. 30 Minuten vor Beimpfung aus der Einzelverpackung entnehmen und den Indikatorbeutel werfen.
- Die Testplatte beschriften.
- Das mit einem anspruchsvollen Hefeisolat oder *Cryptococcus* spp.- Isolat inokulierte MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose, siehe Abschnitt 7.2 bzw. 7.3, in ein 1-Kanal-Reservoir geben.
- Die Beimpfung der Mikrotitrationsplatte erfolgt manuell mit der 8-Kanal-Pipette mit 100 µL pro Kavität.

### 7.5 Versiegelung und Inkubation

- Nach dem Beimpfen jede Testplatte mit einer unperforierten Abklebefolie verschließen (**Testplatten nicht stapeln**).
- Testplatten in Abhängigkeit des Farbumschlags 24–48 Stunden bei 35 bis 37 °C (*Candida* spp.) oder 24–72 Stunden bei 30 °C (*Cryptococcus* spp.) unter aeroben Bedingungen inkubieren.

### 7.6 Ablesung

- Abklebefolien entfernen.
- Testplatten von unten abwischen.
- Ablesung der Testplatten photometrisch oder visuell.

### 7.7 Auswertung

Die Auswertung erfolgt gemäß der Beschreibung in Abschnitt 6.6.

## **7.8 Bewertung**

Die Bewertung erfolgt gemäß der Beschreibung in Abschnitt 6.7.

## **7.9 MHK-Wert**

Definition des MHK-Wertes sowie Voraussetzung für die Bestimmung des MHK-Wertes in Abschnitt 6.8.

## **7.10 Springer**

Definition von „Springer“ in Abschnitt 6.9.

## 8 Technische Hinweise

Um bestmögliche Ergebnisse zu erhalten, beachten Sie bitte folgende Punkte der Gebrauchsanweisung genau:

- Die MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatte ist nur zum einmaligen Gebrauch bestimmt. Eine Wiederverwendung der Testplatte ist ausgeschlossen.
- Arbeiten Sie mit Reinkulturen vom Sabouraud-Glucose (Dextrose) (4 %)-Agar (ohne Zusatz), die nicht älter als 24 Stunden sind und bei 30° C inkubiert wurden. Für langsam wachsende Isolate muss die Inkubationszeit gegebenenfalls verlängert werden.
- Achten Sie darauf, dass sich nach der Inokulation der Testplatte keine Tropfen der Hefesuspension bzw. *Cryptococcus* spp.-Suspension am Rand der Kavitäten befinden. Da diese keinen Kontakt mit dem Antimykotikum haben, kann dies vereinzelt zu Wachstum in den Kavitäten führen (Springer).
- Verwenden Sie NaCl 0,9 %, pH-Wert 5,5–6,5.
- Beachten Sie die genaue Einstellung der Suspension auf McFarland Standard 0,5. Die hergestellte Suspension ist ausreichend zu homogenisieren.
- Die Zugabe von AST-Indicator und Methylene blue solution muss aus Stabilitätsgründen zeitnah vor Zugabe des Inokulums zum Medium erfolgen. Die hergestellte Suspension ist ausreichend zu homogenisieren.
- Verwenden Sie nur das von Bruker Daltonics GmbH & Co. KG hergestellte MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose.
- Lagern Sie das MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose bei 2 bis 25 °C und das AST-Reagent Kit bei 2 bis 8 °C.
- Wird das MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose im Kühlschrank gelagert, temperieren Sie das Medium vor Benutzung ausreichend im Brutschrank, siehe Abschnitt 6.1 bzw. 7.1.
- Überimpfen Sie die Hefesuspension bzw. *Cryptococcus* spp.- Suspension zur Reinheitskontrolle auf eine Sabouraud-Glucose (Dextrose) (4 %) Agarplatte (ohne Zusatz).
- Befolgen Sie die jeweiligen Inkubationstemperaturen und Inkubationszeiten.



## 9 Qualitätskontrolle

Die MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC Testplatte und die Reagenzien unterliegen in verschiedenen Stadien der Produktion systematisch durchgeführten Qualitätskontrollen. Die mykologische Qualitätskontrolle kann mit folgenden Stämmen durchgeführt werden:

Stämme	ATCC <sup>1</sup> Nr.	DSMZ <sup>2</sup> Nr.
<i>Candida krusei</i>	ATCC 6258	DSM 6128
<i>Candida parapsilosis</i> <sup>3</sup>	ATCC 22019	DSM 5784

Bei der Auswertung der Kontrollstämmen müssen die MHK-Werte innerhalb der im EUCAST Standard aufgeführten bzw. der von Bruker Daltonics GmbH & Co. KG definierten Grenzkontrollbereiche (MCN-Range) für das jeweilige getestete Antimykotikum liegen. Diese können dem chargenspezifischen Analysenzertifikat entnommen werden.

Werden die Qualitätskontrollstämmen unmittelbar nach Ausimpfung aus einer Kryokultur und dem Passagieren für den Test eingesetzt, reicht die jeweilige Kultivierung auf Sabouraud-Glucose (Dextrose) (4 %)-Agar (ohne Zusatz) aus.

Zur Lagerung der Qualitätskontrollstämmen über einen längeren Zeitraum (max. 4 Wochen im Kühlschrank bei 2 bis 8 °C), müssen die Stämme auf Kartoffel-Dextrose-Agar überimpft werden. Für den Einsatz in der Testung müssen die Stämme auf Sabouraud-Glucose (Dextrose) (4 %)-Agar (ohne Zusatz) passagiert werden. Eine Lagerung von Qualitätskontrollstämmen auf Sabouraud-Glucose (Dextrose) (4 %)-Agar (ohne Zusatz) ist nicht zu empfehlen, da im Gegensatz zu klinischen Isolaten erhöhte MHK-Werte bei der Empfindlichkeitstestung auftreten können.

<sup>1</sup>ATCC = American Type Culture Collection

<sup>2</sup>DSMZ = Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures Ltd.)

<sup>3</sup>Testung nur mit AST-Indicator (ohne Methylene blue solution)

## 10 Klinische und analytische Performancedaten

Es gelten die allgemeinen Anforderungen in Anlehnung an DIN EN ISO 20776- 1 und folgende bzw. nach EUCAST.

Im Rahmen der klinischen Leistungsbewertung wurden insgesamt acht Studien mit 1625 klinischen Isolaten ausgewertet, in denen das MICRONAUT-AM Testsystem unter anderem gegen die Referenzmethoden der Mikrodilutionsmethoden des EUCAST und des CLSI getestet wurden. Dabei konnte ein Overall Agreement von > 90 % sowie Essential Agreements von 99 % für Anidulafungin, 100 % für Amphotericin B, 90 % für Voriconazol und 87 % für Itraconazol erzielt werden. Die zugehörigen Categorical Agreement Werte lagen bei 100 %, 96 %, 97 und 96 %.

Gemäß den Vorgaben der Norm DIN EN ISO 20776-2 ist die Performance eines Produktes für die antibakterielle Empfindlichkeitstestung gegeben, wenn zum einen mindestens 95 % der MHK-Werte eines für einen Teststamm relevanten Antibiotikums im entsprechenden Qualitätskontrollbereich liegen bzw. den entsprechenden Resistenzphänotyp widerspiegeln und zum anderen die MHK-Werte eines Antibiotikums um maximal +/- eine Dilutionsstufe vom errechneten MHK-Modalwert (oder MHK- Modalbereich) abweichen. Das MICRONAUT- AM Testsystem weist eine Wiederholbarkeit von 100 % und Reproduzierbarkeit zwischen 98.1 % bis 100 % auf und erfüllt somit die Anforderungen der DIN EN ISO 20776-2 an ein AFST Produkt in Bezug auf die Präzision.

## 11 Gewährleistung

Die Performancedaten des MICRONAUT-AM Testsystems wurden mit Hilfe der entsprechenden Gebrauchsanweisung ermittelt. Abweichungen oder Änderungen in der Testdurchführung können die Qualität der Ergebnisse beeinträchtigen. Jegliche Entschädigungsansprüche sind in diesem Falle ausgeschlossen.








Wir weisen darauf hin, dass alle im Zusammenhang mit diesem Produkt auftretenden schwerwiegenden Vorfälle dem Hersteller und der zuständigen Behörde des EU-Mitgliedstaates, in dem der Anwender niedergelassen ist, zu melden sind.

## 12 Limitierung

Für die Anzucht zur Empfindlichkeitsprüfung von Hefen und *Cryptococcus* spp. ist ausschließlich Sabouraud-Glucose (Dextrose) (4 %)-Agar (ohne Zusätze) zu verwenden. Höhere Glucosekonzentrationen sowie andere Zuckerzusätze können zu erhöhten MHK-Werten führen.

Für die Bestimmung valider MHK-Werte mit dem Testsystem ist die ausschließliche Verwendung des von Bruker Daltonics GmbH & Co. KG hergestellten MICRONAUT-RPMI-1640 Medium + MOPS + Glucose erforderlich.

## 13 Erläuterungen der Symbole

Symbol	Beschreibung
	Nicht wiederverwenden
	Ausreichend für <n> Prüfungen
	Temperaturbegrenzung
	Gebrauchsanweisung beachten
	Achtung
	Verwendbar bis
CE	CE-Kennzeichnung gemäß IVDD 98/79/EG
<b>LOT</b>	Fertigungslosnummer, Charge
<b>IVD</b>	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
<b>REF</b>	Artikelnummer
	Hersteller

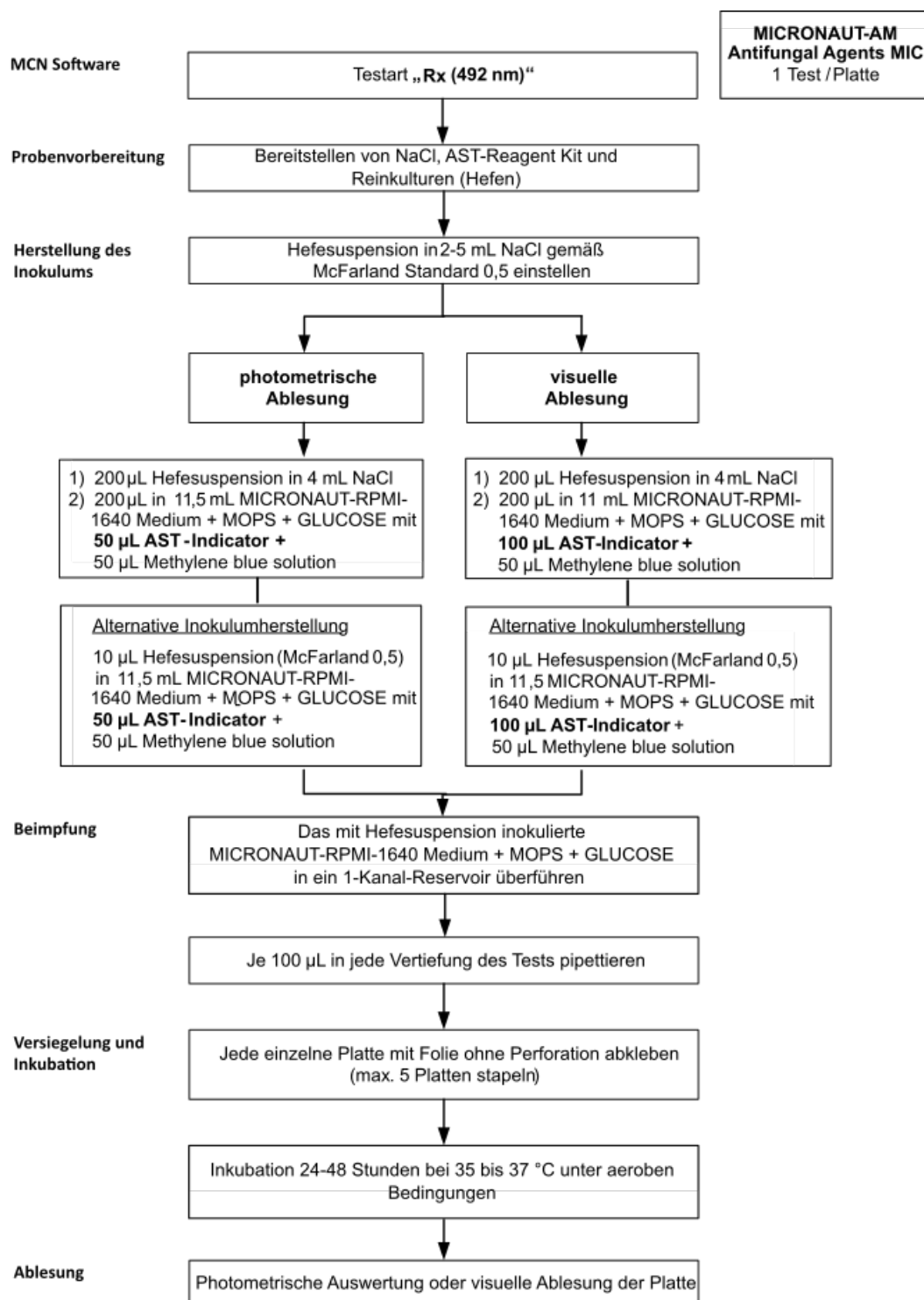
## 14 Literatur

- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Routine and extended internal quality control for antifungal susceptibility as recommended by EUCAST.<sup>1</sup>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Antifungal Agents. Breakpoint tables for interpretation of MICs.<sup>1</sup>
- Dermoumi H.: In vitro susceptibility of fungal isolates of clinically important specimens to itraconazole, fluconazole and amphotericin B, Chemotherapy 40 (1994); 92-98.
- Schmalreck A. F, Hotzel H.: Fourier Transform Infrarot Spektroskopie, molekularbiologische Methoden und Antimykotika-Empfindlichkeitsmuster zur Identifizierung und Differenzierung von Cryptococcus-Spezies. Mycoses 43 (2000).
- Rex J. H., Pfaller M.A., Walsh T. J. Antifungal Susceptibility Testing: Practical Aspects and current Challenges. Clin. Microbiology Review Oct.2001, p. 643-658.
- Arthington-Skaggs B.A. et al., Comparison of Visual and Spectrophotometric Methods of Broth Micro-dilution MIC End Point Determination and Evaluation of a Sterol Quantitation Method for In Vitro Susceptibility Testing of Fluconazole and Itraconazole against Trailing and Nontrailing Candida Isolates. Antimicrobial Agents and Chemotherapy Aug. 2002, p.2477-2481.
- Pfaller M.A. and Diekema D. J.: Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. Clin. Microbiology Review Jan. 2007, p. 133-163.

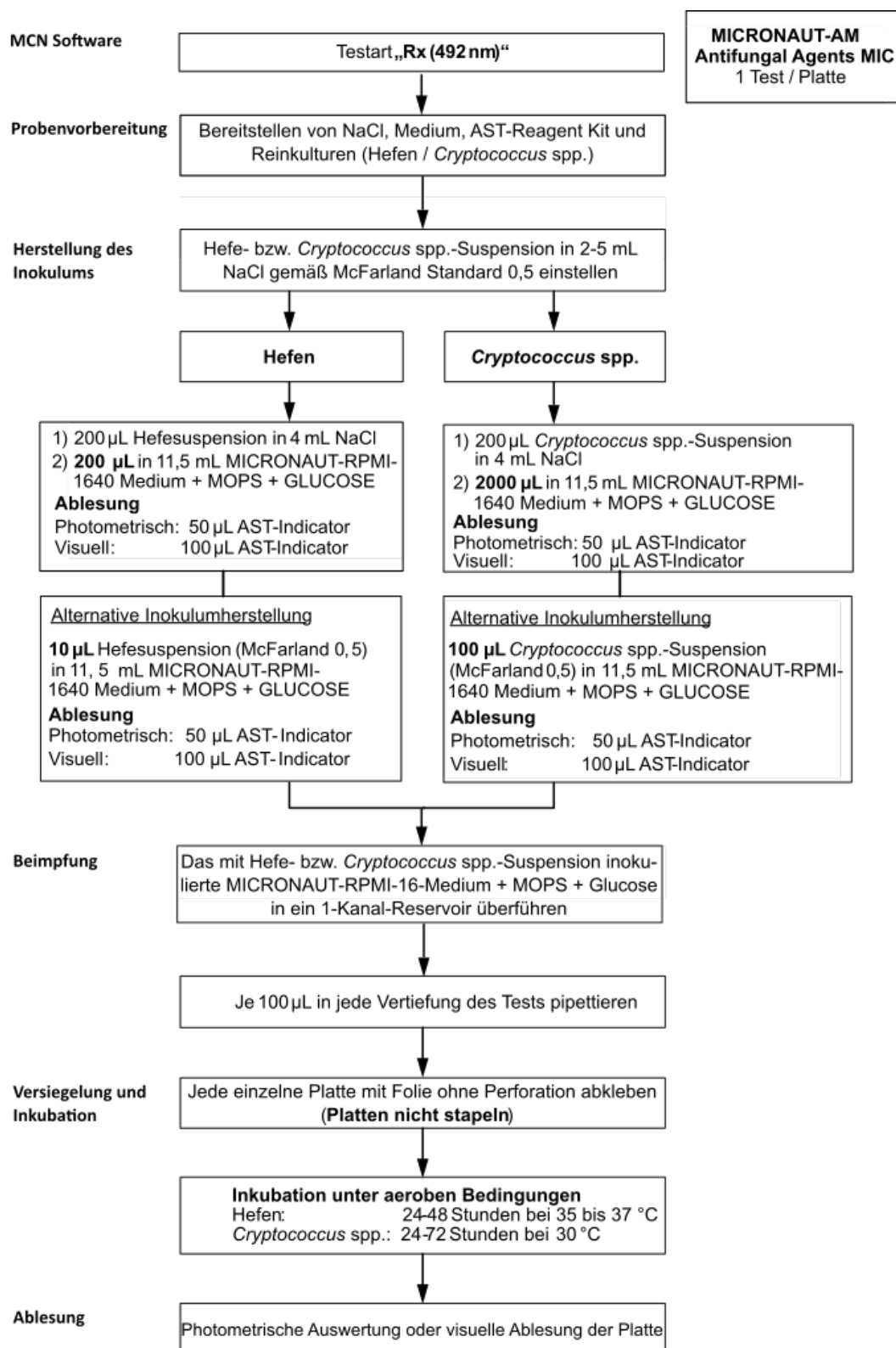
---

<sup>1</sup> Jeweils in der aktuellen Fassung zu verwenden

# 15 Kurzanleitung MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC für nicht anspruchsvolle Hefen



# 16 Kurzanleitung MICRONAUT-AM Antifungal Agents MIC für anspruchsvolle Hefen und *Cryptococcus* spp.





## 17 Hersteller

**Bruker Daltonics GmbH & Co. KG**

Fahrenheitstraße 4

28359 Bremen

Deutschland

Telefon: +49 421 2205-0

E-Mail: [micronaut.support@bruker.com](mailto:micronaut.support@bruker.com)Internet: [www.bruker.com/microbiology](http://www.bruker.com/microbiology)

Anstelle der Informationen aus älteren Dokumenten gelten die Beschreibungen und technischen Spezifikationen aus diesem Dokument.

© Copyright 2021 Bruker Daltonics GmbH & Co. KG