

# Medical Detectives Consumable Kit (470237-808)

## Complete SDS

### Table of Contents

Toxin Kit Mapping	2
Sodium hydroxide solution	3-13
Aluminum nitrate solution	14-24
Thymolphthalein solution	25-28
Cobalt (II) chloride solution	29-39
Sodium salicylate solution	40-49
Sheep Brains	50
Pure Brain Preservative	51-56
Isopropanol Alcohol	57-58
Sensi-Disc™ Antimicrobial Susceptibility Test Discs	59-66
Clorox® Disinfecting Bleach	67-75

<u>Label</u>	<u>Compound(s)</u>	<u>Concentration</u>
PERSON 1 SAMPLE MYSTERY TOXIN	Sodium hydroxide	0.04%
PERSON 2 SAMPLE MYSTERY TOXIN	Sodium hydroxide	0.04%
PERSON 3 SAMPLE MYSTERY TOXIN	Water (H2O)	100%
PERSON 4 SAMPLE MYSTERY TOXIN	Sodium hydroxide	0.04%
PERSON 5 SAMPLE MYSTERY TOXIN	Aluminum nitrate	6.54%
PERSON 6 SAMPLE MYSTERY TOXIN	Water (H2O)	100%
PERSON 7 SAMPLE MYSTERY TOXIN	Sodium hydroxide	0.04%
PERSON 8 SAMPLE MYSTERY TOXIN	Water (H2O)	100%
PERSON 9 SAMPLE MYSTERY TOXIN	Sodium hydroxide	0.04%
PERSON 10 SAMPLE MYSTERY TOXIN	Sodium hydroxide	0.04%
POS CTRL FOR TOXIN 1	Sodium hydroxide	0.04%
POS CTRL FOR TOXIN 2	Aluminum nitrate	6.54%
POS CTRL FOR TOXIN 3	Thymolphthalein and Ethanol	0.04%
SAMPLE REAGENT FOR TOXIN 1	Cobalt chloride	2.32%
SAMPLE REAGENT FOR TOXIN 2	Sodium salicylate	5.66%
SAMPLE REAGENT FOR TOXIN 3	Sodium hydroxide	0.04%
NEG CTRL (ALL)	Water (H2O)	100%

# Safety Data Sheet

according to the (US) Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200)

Revision date: 23.04.2018

Version: 6.0

Print date: 23.04.2018

## SECTION 1: Identification

### Product identifier

Trade name/designation:	Sodium hydroxide solution
Product No.:	SciEd3
Synonyms:	no data available
CAS No.:	1310-73-2
Other means of identification:	

### Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against

Recommended Use:	For Further Manufacturing Use Only
Uses advised against:	Not for Human or Animal Drug Use

### Details of the supplier of the safety data sheet

#### Supplier

##### **VWR International LLC**

Street	100 Matsonford Road Radnor Corporate Center, Building One, Suite 200 P. O. Box 6660
Postal code/city	Radnor, PA 19087
Telephone	+1-800-932-5000 toll-free within US/Canada +1-610-386-1700
Telefax:	+1-610-728-2103

## Emergency telephone

Telephone +1-800-424-9300 (Chemtrec, 24 hrs/day, 7 days/week, USA)

## Preparation Information

VWR International - Product Information Compliance

E-mail sds@vwr.com

## SECTION 2: Hazards identification

### 2.1 Classification of the substance or mixture

#### GHS Classification in accordance with 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS)

This mixture is classified as not hazardous according to regulation 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS)

### 2.2 Label elements

#### Labelling in accordance with 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS)

According to regulation 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS) the product does not have to be labelled.

#### Hazards not otherwise classified (HNOC)

Not regulated

## SECTION 3: Composition / information on ingredients

### 3.1 Substances

not applicable

### 3.2 Mixtures

#### Hazardous ingredients Classification according to the OSHA Hazard Communication Standard 29 CFR 1910.1200

Substance name	Concentration	Product identifier	Hazard classes and hazard categories
Sodium hydroxide	0.04%	CAS No.: 1310-73-2	Skin Corr. 1A - H314

## SECTION 4: First aid measures

### 4.1 General information

When in doubt or if symptoms are observed, get medical advice. If unconscious place in recovery position and seek medical advice. Never give anything by mouth to an unconscious person or a person with cramps. Change contaminated, saturated clothing. Do not leave affected person unattended.

#### After inhalation

Remove casualty to fresh air and keep warm and at rest. If breathing is irregular or stopped, administer artificial respiration. In case of respiratory tract irritation, consult a physician.

#### **In case of skin contact**

After contact with skin, wash immediately with plenty of water and soap. Remove contaminated, saturated clothing immediately. In case of skin reactions, consult a physician.

#### **After eye contact**

In case of contact with eyes flush immediately with plenty of flowing water for 10 to 15 minutes holding eyelids apart and consult an ophthalmologist. Protect uninjured eye. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

#### **In case of ingestion**

If accidentally swallowed rinse the mouth with plenty of water (only if the person is conscious) and obtain immediate medical attention. Do NOT induce vomiting. Give nothing to eat or drink.

### **4.2 Most important symptoms/effects, acute and delayed**

no data available

### **4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed**

no data available

### **4.4 Self-protection of the first aider**

First aider: Pay attention to self-protection!

### **4.5 Information to physician**

no data available

## **SECTION 5: Firefighting measures**

### **5.1 Extinguishing media**

#### **Suitable extinguishing media**

The product itself does not burn.  
Co-ordinate fire-fighting measures to the fire surroundings.

#### **Extinguishing media which must not be used for safety reasons**

no restriction

### **5.2 Specific hazards arising from the chemical**

In case of fire may be liberated:  
Pyrolysis products, toxic

### **5.3 Advice for firefighters**

DO NOT fight fire when fire reaches explosives.  
Protective equipment and precautions for firefighters  
Wear a self-contained breathing apparatus and chemical protective clothing.

#### **Additional information**

Do not allow run-off from fire-fighting to enter drains or water courses.  
Do not inhale explosion and combustion gases.  
Use water spray/stream to protect personnel and to cool endangered containers.  
In case of fire: Evacuate area.

## SECTION 6: Accidental release measures

### 6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

In case of major fire and large quantities: Remove persons to safety.

### 6.2 Environmental precautions

Discharge into the environment must be avoided.

### 6.3 Methods and material for containment and cleaning up

Spilled product must never be returned to the original container for recycling. Collect in closed and suitable containers for disposal.

### 6.4 Additional information

Clear spills immediately.

## SECTION 7: Handling and storage

### 7.1 Precautions for safe handling

Avoid: Inhalation Avoid contact with eyes and skin. Use extractor hood (laboratory). If handled uncovered, arrangements with local exhaust ventilation have to be used. If local exhaust ventilation is not possible or not sufficient, the entire working area must be ventilated by technical means. Protect from moisture.

### 7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

Recommended storage temperature: 15-25 °C

Keep container tightly closed and in a well-ventilated place.

### 7.3 Specific end use(s)

no data available

## SECTION 8: Exposure controls/personal protection

### 8.1 Control parameters

Does not contain substances above concentration limits fixing an occupational exposure limit.

### 8.2 Engineering controls

#### Appropriate engineering controls

Technical measures and the application of suitable work processes have priority over personal protection equipment. If handled uncovered, arrangements with local exhaust ventilation have to be used.

#### Personal protection equipment (PPE)

Wear suitable protective clothing. When handling with chemical substances, protective clothing must be worn.

#### *Eye/face protection*

Eye glasses with side protection

#### *Skin protection*

Wear suitable gloves. When handling with chemical substances, protective gloves must be worn. In the case of wanting to use the gloves again, clean them before taking off and air them well. Check leak tightness/impermeability prior to use.

By short-term hand contact

Suitable material:	NBR (Nitrile rubber)
Thickness of the glove material:	0,12 mm
Breakthrough time (maximum wearing time):	> 480 min

By long-term hand contact

Suitable material:	NBR (Nitrile rubber)
Thickness of the glove material:	0,38 mm
Breakthrough time (maximum wearing time):	> 480 min

*Respiratory protection*

Usually no personal respirative protection necessary.

*Additional information*

Wash hands before breaks and after work. Avoid contact with skin and eyes. When using do not eat, drink or smoke. Provide eye shower and label its location conspicuously.

*Environmental exposure controls*

no data available

## SECTION 9: Physical and chemical properties

### 9.1 Information on basic physical and chemical properties

(a) Appearance	
Physical state:	liquid
Color:	colorless
(b) Odour:	no data available
(c) Odour threshold:	no data available

#### Safety relevant basic data

(d) pH:	no data available
(e) Melting point/freezing point:	no data available
(f) Initial boiling point and boiling range:	no data available
(g) Flash point:	no data available
(h) Evaporation rate:	no data available
(i) Flammability (solid, gas):	not applicable
(j) Flammability or explosive limits	
Lower explosion limit:	no data available
Upper explosion limit:	no data available
(k) Vapour pressure:	no data available
(l) Vapour density:	no data available
(m) Relative density:	no data available
(n) Solubility(ies)	
Water solubility (g/L):	no data available
Soluble (g/L) in Ethanol:	no data available
(o) Partition coefficient: n-octanol/water:	no data available
(p) Auto-ignition temperature:	no data available
(q) Decomposition temperature:	no data available
(r) Viscosity	
Kinematic viscosity:	no data available
Dynamic viscosity:	no data available
(s) Explosive properties:	not applicable
(t) Oxidising properties:	not applicable

### 9.2 Other information

Bulk density:	not applicable
Refraction index:	no data available
Dissociation constant:	no data available
Surface tension:	no data available
Henry constant:	no data available

## SECTION 10: Stability and reactivity

### 10.1 Reactivity

no data available



## 10.2 Chemical stability

The product is chemically stable under standard ambient conditions (room temperature) .

## 10.3 Possibility of hazardous reactions

no data available

## 10.4 Conditions to avoid

no data available

## 10.5 Incompatible materials

no data available

## 10.6 Hazardous decomposition products

no data available

## 10.7 Additional information

no data available

# SECTION 11: Toxicological information

## 11.1 Information on toxicological effects

### Acute effects

*Acute oral toxicity:*

no data available

*Acute dermal toxicity:*

Sodium hydroxide - LD50: 1350 mg/kg - Rabbit - (IUCLID)

*Acute inhalation toxicity:*

no data available

### Irritant and corrosive effects

*Primary irritation to the skin:*

not applicable

*Irritation to eyes:*

not applicable

*Irritation to respiratory tract:*

not applicable

**Respiratory or skin sensitization**

In case of skin contact: not sensitising

After inhalation: not sensitising

**STOT-single exposure**

not applicable

**STOT-repeated exposure**

not applicable

**CMR effects (carcinogenicity, mutagenicity and toxicity for reproduction)**

**Carcinogenicity**

The table below indicates whether each agency has listed any ingredient as a carcinogen.

no data available	ACGIH	IARC	NTP	OSHA

**Germ cell mutagenicity**

No indications of human germ cell mutagenicity exist.

**Reproductive toxicity**

No indications of human reproductive toxicity exist.

**Aspiration hazard**

not applicable

**Other adverse effects**

no data available

**Additional information**

no data available

## SECTION 12: Ecological information

### 12.1 Ecotoxicity

**Fish toxicity:**

Sodium hydroxide - LC50: 196 mg/l (96 h) - Adema, D.M.M. 1985. Aquatic Toxicity of Compounds that may be Carried by Ships (Marpol 19733 Annex II). A Progress Report for 1985. Tech.Rep.No.R85/217, TNO, The Hague, Netherlands :40 p.

**Daphnia toxicity:**

Sodium hydroxide - EC50: 40.4 mg/l (48 h) - Warne, M.S.J., and A.D. Schifko 1999. Toxicity of Laundry Detergent Components to a Freshwater Cladoceran and Their Contribution to Detergent Toxicity. Ecotoxicol.Environ.Saf. 44(2):196-206

**Algae toxicity:**

no data available

**Bacteria toxicity:**  
no data available

### 12.2 Persistence and degradability

no data available

### 12.3 Bioaccumulative potential

Partition coefficient: n-octanol/water: no data available

### 12.4 Mobility in soil:

no data available

### 12.5 Results of PBT/vPvB assessment

no data available

### 12.6 Other adverse effects

no data available

## SECTION 13: Disposal considerations

### 13.1 Waste treatment methods

#### Appropriate disposal / Product

Dispose according to legislation. Consult the appropriate local waste disposal expert about waste disposal.

Waste code product: no data available

#### Appropriate disposal / Package

Dispose according to legislation. Handle contaminated packages in the same way as the substance itself.

#### Additional information

no data available

## SECTION 14: Transport information

### Land transport (DOT)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

### Sea transport (IMDG)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

Transport in bulk according to Annex II of MARPOL 73/78 and the IBC Code  
not relevant

### Air transport (ICAO-TI / IATA-DGR)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

## SECTION 15: Regulatory information

### Safety, health and environmental regulations/legislation specific for the substance or mixture

#### SARA 313 Components

Does not contain listed substances.

#### Massachusetts Right To Know Components

- Sodium hydroxide - CAS No.: 1310-73-2

#### Pennsylvania Right To Know Components

- Sodium hydroxide - CAS No.: 1310-73-2

#### New Jersey Right To Know Components

- Sodium hydroxide - CAS No.: 1310-73-2

#### California Prop. 65 Components

Does not contain listed substances.

## SECTION 16: Other information

### Abbreviations and acronyms

ACGIH - American Conference of Governmental Industrial Hygienists  
DOT - Department of Transportation  
IARC - International Agency for Research on Cancer  
IATA-DGR - International Air Transport Association-Dangerous Goods Regulations  
ICAO-TI - International Civil Aviation Organization-Technical Instructions  
IMDG - International Maritime Code for Dangerous Goods  
LTV - Long Term Value  
NIOSH - National Institute for Occupational Safety and Health  
NTP - National Toxicology Program  
OSHA - Occupational Safety & Health Administration  
PBT - Persistent, Bioaccumulative and Toxic  
PEL - Permissible Exposure Limit  
STV - Short Term Value  
SVHC - Substances of Very High Concern  
TDG - Transport of Dangerous Goods  
TLV - Threshold Limit Value  
vPvB - very Persistent, very Bioaccumulative

### Additional information

Indication of changes:                      general update

*The above information is believed to be correct but does not purport to be all-inclusive and shall be used only as a guidance. The information in this document is based on the present state knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. VWR International and his Affiliates shall not be held liable for any damage resulting from handling.*

# Safety Data Sheet

according to the (US) Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200)

Revision date: 23.04.2018

Version: 6.0

Print date: 23.04.2018

## SECTION 1: Identification

### Product identifier

Trade name/designation:	Aluminium nitrate solution
Product No.:	SciEd1
Synonyms:	no data available
CAS No.:	not applicable
Other means of identification:	

### Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against

Recommended Use:	For Further Manufacturing Use Only
Uses advised against:	Not for Human or Animal Drug Use

### Details of the supplier of the safety data sheet

#### Supplier

##### **VWR International LLC**

Street	100 Matsonford Road Radnor Corporate Center, Building One, Suite 200 P. O. Box 6660
Postal code/city	Radnor, PA 19087
Telephone	+1-800-932-5000 toll-free within US/Canada +1-610-386-1700
Telefax:	+1-610-728-2103

### Emergency telephone

Telephone +1-800-424-9300 (Chemtrec, 24 hrs/day, 7 days/week, USA)

### Preparation Information

VWR International - Product Information Compliance

E-mail sds@vwr.com

## SECTION 2: Hazards identification

### 2.1 Classification of the substance or mixture

#### GHS Classification in accordance with 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS)

Hazard classes and hazard categories	Hazard statements
Serious eye damage, category 1	H318

### 2.2 Label elements

#### Labelling in accordance with 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS)

#### Hazard pictograms



Signal word: Danger

Hazard statements	
H318	Causes serious eye damage.

Precautionary statements	
P280	Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P308+P310	IF exposed or concerned: Immediately call a POISON CENTER/doctor.

#### Hazards not otherwise classified (HNOC)

none/none

## SECTION 3: Composition / information on ingredients

### 3.1 Substances

not applicable

### 3.2 Mixtures

Hazardous ingredients Classification according to the OSHA Hazard Communication Standard 29 CFR 1910.1200

Substance name	Concentration	Product identifier	Hazard classes and hazard categories
Aluminium nitrate	6.54%	CAS No.: 13473-90-0	Ox. Sol. 3 - H272 Eye Irrit. 1 - H318 Skin Irrit. 2 - H315

## SECTION 4: First aid measures

### 4.1 General information

IF exposed: Immediately call a POISON CENTER/doctor. If unconscious place in recovery position and seek medical advice. Never give anything by mouth to an unconscious person or a person with cramps. Change contaminated, saturated clothing. Do not leave affected person unattended.

#### After inhalation

Immediately call a POISON CENTER/doctor. Remove casualty to fresh air and keep warm and at rest. If breathing is irregular or stopped, administer artificial respiration.

#### In case of skin contact

After contact with skin, wash immediately with plenty of water and soap. Remove contaminated, saturated clothing immediately. In case of skin reactions, consult a physician.

#### After eye contact

In case of contact with eyes flush immediately with plenty of flowing water for 10 to 15 minutes holding eyelids apart and consult an ophthalmologist. Protect uninjured eye. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

#### In case of ingestion

Immediately call a POISON CENTER/doctor. Do NOT induce vomiting. Rinse mouth thoroughly with water. Give nothing to eat or drink.

### 4.2 Most important symptoms/effects, acute and delayed

no data available

### 4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

no data available

### 4.4 Self-protection of the first aider

First aider: Pay attention to self-protection!

### 4.5 Information to physician

no data available



## SECTION 5: Firefighting measures

### 5.1 Extinguishing media

#### Suitable extinguishing media

The product itself does not burn.  
Co-ordinate fire-fighting measures to the fire surroundings.

#### Extinguishing media which must not be used for safety reasons

no restriction

### 5.2 Specific hazards arising from the chemical

In case of fire may be liberated:  
Pyrolysis products, toxic

### 5.3 Advice for firefighters

DO NOT fight fire when fire reaches explosives.  
Protective equipment and precautions for firefighters  
Wear a self-contained breathing apparatus and chemical protective clothing.

#### Additional information

Do not allow run-off from fire-fighting to enter drains or water courses.  
Do not inhale explosion and combustion gases.  
Use water spray/stream to protect personnel and to cool endangered containers.  
In case of fire: Evacuate area.

## SECTION 6: Accidental release measures

### 6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

In case of major fire and large quantities: Remove persons to safety.

### 6.2 Environmental precautions

Discharge into the environment must be avoided.

### 6.3 Methods and material for containment and cleaning up

Spilled product must never be returned to the original container for recycling. Collect in closed and suitable containers for disposal.

### 6.4 Additional information

Clear spills immediately.

## SECTION 7: Handling and storage

### 7.1 Precautions for safe handling

All work processes must always be designed so that the following is as low as possible: Inhalation skin contact Eye contact Use extractor hood (laboratory). If handled uncovered, arrangements with local exhaust ventilation have to be used. If local exhaust ventilation is not possible or not sufficient, the entire working area must be ventilated by technical means.

### 7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

Recommended storage temperature: no data available  
Keep container tightly closed and in a well-ventilated place. Keep/Store only in original container.

### 7.3 Specific end use(s)

no data available

## SECTION 8: Exposure controls/personal protection

### 8.1 Control parameters

Does not contain substances above concentration limits fixing an occupational exposure limit.

### 8.2 Engineering controls

#### **Appropriate engineering controls**

Technical measures and the application of suitable work processes have priority over personal protection equipment. If handled uncovered, arrangements with local exhaust ventilation have to be used.

#### **Personal protection equipment (PPE)**

Wear suitable protective clothing. When handling with chemical substances, protective clothing must be worn.

#### *Eye/face protection*

Eye glasses with side protection

#### *Skin protection*

Wear suitable gloves. When handling with chemical substances, protective gloves must be worn. In the case of wanting to use the gloves again, clean them before taking off and air them well. Check leak tightness/impermeability prior to use.

#### *Respiratory protection*

Respiratory protection necessary at: aerosol or mist formation If exposure limits are exceeded or irritation is experienced, NIOSH approved respiratory protection should be worn.

#### *Additional information*

Wash hands before breaks and after work. Avoid contact with skin and eyes. When using do not eat, drink or smoke. Provide eye shower and label its location conspicuously.

#### *Environmental exposure controls*

no data available

## SECTION 9: Physical and chemical properties

### 9.1 Information on basic physical and chemical properties

(a) Appearance	
Physical state:	liquid
Color:	colorless
(b) Odour:	no data available
(c) Odour threshold:	no data available

#### Safety relevant basic data

(d) pH:	no data available
(e) Melting point/freezing point:	no data available
(f) Initial boiling point and boiling range:	no data available
(g) Flash point:	no data available
(h) Evaporation rate:	no data available
(i) Flammability (solid, gas):	not applicable
(j) Flammability or explosive limits	
Lower explosion limit:	no data available
Upper explosion limit:	no data available
(k) Vapour pressure:	no data available
(l) Vapour density:	no data available
(m) Relative density:	no data available
(n) Solubility(ies)	
Water solubility (g/L):	no data available
Soluble (g/L) in Ethanol:	no data available
(o) Partition coefficient: n-octanol/water:	no data available
(p) Auto-ignition temperature:	no data available
(q) Decomposition temperature:	no data available
(r) Viscosity	
Kinematic viscosity:	no data available
Dynamic viscosity:	no data available
(s) Explosive properties:	not applicable
(t) Oxidising properties:	not applicable

### 9.2 Other information

Bulk density:	not applicable
Refraction index:	no data available
Dissociation constant:	no data available
Surface tension:	no data available
Henry constant:	no data available

## SECTION 10: Stability and reactivity

### 10.1 Reactivity

no data available

## 10.2 Chemical stability

The product is chemically stable under standard ambient conditions (room temperature) .

## 10.3 Possibility of hazardous reactions

no data available

## 10.4 Conditions to avoid

no data available

## 10.5 Incompatible materials

no data available

## 10.6 Hazardous decomposition products

no data available

## 10.7 Additional information

no data available

# SECTION 11: Toxicological information

## 11.1 Information on toxicological effects

### Acute effects

#### *Acute oral toxicity:*

Aluminium nitrate - LD50: 542.5 mg/kg - Rat - (New Zealand Chemical Classification and Information Database)

#### *Acute dermal toxicity:*

no data available

#### *Acute inhalation toxicity:*

no data available

### Irritant and corrosive effects

#### *Primary irritation to the skin:*

not applicable

#### *Irritation to eyes:*

Causes serious eye damage.

#### *Irritation to respiratory tract:*

not applicable

**Respiratory or skin sensitization**

In case of skin contact: not sensitising

After inhalation: not sensitising

**STOT-single exposure**

not applicable

**STOT-repeated exposure**

not applicable

**CMR effects (carcinogenicity, mutagenicity and toxicity for reproduction)**

**Carcinogenicity**

The table below indicates whether each agency has listed any ingredient as a carcinogen.

no data available	ACGIH	IARC	NTP	OSHA

**Germ cell mutagenicity**

No indications of human germ cell mutagenicity exist.

**Reproductive toxicity**

No indications of human reproductive toxicity exist.

**Aspiration hazard**

not applicable

**Other adverse effects**

no data available

**Additional information**

no data available

**SECTION 12: Ecological information**

**12.1 Ecotoxicity**

**Fish toxicity:**

no data available

**Daphnia toxicity:**

no data available

**Algae toxicity:**

no data available

**Bacteria toxicity:**

no data available

## 12.2 Persistence and degradability

no data available

## 12.3 Bioaccumulative potential

Partition coefficient: n-octanol/water: no data available

## 12.4 Mobility in soil:

no data available

## 12.5 Results of PBT/vPvB assessment

no data available

## 12.6 Other adverse effects

no data available

# SECTION 13: Disposal considerations

## 13.1 Waste treatment methods

### Appropriate disposal / Product

Dispose according to legislation. Consult the appropriate local waste disposal expert about waste disposal.

Waste code product: no data available

### Appropriate disposal / Package

Dispose according to legislation. Handle contaminated packages in the same way as the substance itself.

### Additional information

no data available

# SECTION 14: Transport information

## Land transport (DOT)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

## Sea transport (IMDG)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

Transport in bulk according to Annex II of MARPOL 73/78 and the IBC Code  
not relevant

## Air transport (ICAO-TI / IATA-DGR)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

## SECTION 15: Regulatory information

### Safety, health and environmental regulations/legislation specific for the substance or mixture

#### SARA 313 Components

Does not contain listed substances.

#### Massachusetts Right To Know Components

Does not contain listed substances.

#### Pennsylvania Right To Know Components

Does not contain listed substances.

#### New Jersey Right To Know Components

- Aluminium nitrate - CAS No.: 13473-90-0

#### California Prop. 65 Components

Does not contain listed substances.

## SECTION 16: Other information

### Abbreviations and acronyms

ACGIH - American Conference of Governmental Industrial Hygienists  
DOT - Department of Transportation  
IARC - International Agency for Research on Cancer  
IATA-DGR - International Air Transport Association-Dangerous Goods Regulations  
ICAO-TI - International Civil Aviation Organization-Technical Instructions  
IMDG - International Maritime Code for Dangerous Goods  
LTV - Long Term Value  
NIOSH - National Institute for Occupational Safety and Health  
NTP - National Toxicology Program  
OSHA - Occupational Safety & Health Administration  
PBT - Persistent, Bioaccumulative and Toxic  
PEL - Permissible Exposure Limit  
STV - Short Term Value  
SVHC - Substances of Very High Concern  
TDG - Transport of Dangerous Goods  
TLV - Threshold Limit Value  
vPvB - very Persistent, very Bioaccumulative

### Additional information

Indication of changes:                      general update

*The above information is believed to be correct but does not purport to be all-inclusive and shall be used only as a guidance. The information in this document is based on the present state knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. VWR International and his Affiliates shall not be held liable for any damage resulting from handling.*



## Section 1 Chemical Product and Company Identification

Page E1 of E2



5100 West Henrietta Rd  
PO Box 92912  
Rochester, NY 14692-9012  
Tel: (800) 962-2660

Boreal Science  
399 Vansickle Road  
St. Catharines, Ontario  
L2S 3T4 Canada  
Tel: (800) 387-9393

**CHEMTREC 24 Hour Emergency  
Phone Number (800) 424-9300**  
For laboratory use only.  
Not for drug, food or household use.

**Product** THYMOLPHTHALEIN, 0.04% SOLUTION

**Synonyms** Thymolphthalein Solution, 0.04% / Thymolphthalein, 0.04% in Ethyl Alcohol / Thymolphthalein, 0.04% in Alcohol / Thymolphthalein, Indicator Solution, 0.04% (Alcoholic)

## Section 2 Hazards Identification

**Signal word:** DANGER

**Pictograms:** GHS02 / GHS07 / GHS08 / GHS06

**Target organs:** Eyes, Central nervous system, Liver, Kidneys.



**GHS Classification:**

Flam. liq. (Category 2)

Acute tox. (Category 3)

Skin irrit. (Category 2)

Eye irrit. (Category 2B)

STOT-SE (Category 2)

STOT-SE (Category 3)

**GHS Label information: Hazard statement:**

H225: Highly flammable liquid and vapour.

H315: Causes skin irritation.

H319: Causes serious eye irritation.

H331: Toxic if inhaled.

H336: May cause drowsiness or dizziness.

H371: May cause damage to organs.

**Precautionary statement:**

P210: Keep away from heat/sparks/open flames/hot surfaces. No smoking.

P240: Ground/bond container and receiving equipment.

P241: Use explosion-proof electrical/ventilating/lighting equipment.

P242: Use only non-sparking tools.

P243: Take precautionary measures against static discharge.

P260: Do not breathe mist/vapours/spray.

P264: Wash hands thoroughly after handling.

P271: Use only outdoors or in a well-ventilated area.

P280: Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P305+P351+P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes.

Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P303+P361+P353: IF ON SKIN (or hair): Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower.

P304+P340: IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing.

P312: Call a POISON CENTER or doctor if you feel unwell.

P332+P313: If skin irritation occurs: Get medical attention.

P337+P313: If eye irritation persists: Get medical attention.

P362+P364: Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

P403+P233: Store in a well-ventilated place. Keep container tightly closed.

P501: Dispose of contents/container to a licensed chemical disposal agency in accordance with local/regional/national regulations.

Ca Prop 65: This product contains a chemical known to the State of California to cause reproductive toxicity (Methanol, developmental).

## Section 3 Composition / Information on Ingredients

Chemical Name	CAS #	%	EINECS
Ethyl alcohol	64-17-5	85.0 - 85.8%	200-578-6
Isopropyl alcohol	67-63-0	9.0%	200-661-7
Methanol	67-56-1	4.0 - 4.3%	200-659-6
Methyl isobutyl ketone	108-10-1	0.9 - 1.0%	203-550-1
Thymolphthalein	125-20-2	0.04%	204-729-7

## Section 4 First Aid Measures

**INGESTION:** MAY BE HARMFUL IF SWALLOWED. Call physician or Poison Control Center immediately. Induce vomiting only if advised by appropriate medical personnel. Never give anything by mouth to an unconscious person.

**INHALATION:** MAY BE HARMFUL, IF INHALED. CAUSES RESPIRATORY TRACT IRRITATION. Remove to fresh air. If not breathing, give artificial respiration. If breathing is difficult, give oxygen. Get medical attention.

**EYE CONTACT:** CAUSES EYE IRRITATION. Check for and remove contact lenses. Flush thoroughly with water for at least 15 minutes, lifting upper and lower eyelids occasionally. Get immediate medical attention.

**SKIN ABSORPTION:** MAY BE HARMFUL IF ABSORBED THROUGH SKIN. CAUSES SKIN IRRITATION. Remove contaminated clothing. Flush thoroughly with mild soap and water. If irritation occurs, get medical attention.

## Section 5 Fire Fighting Measures

**Suitable Extinguishing Media:** Carbon dioxide, dry chemical, dry sand, alcohol foam.

**Protective Actions for Fire-fighters:** In fire conditions, wear a NIOSH/MSHA-approved self-contained breathing apparatus and full protective gear. Use water spray to keep fire-exposed containers cool.

**Specific Hazards:** During a fire, irritating and highly toxic gases may be generated by thermal decomposition or combustion. Vapors formed from this product are heavier than air and may travel along the ground to a distant source of ignition and flash back instantly. Flame may not be visible in daylight.

## Section 6 Accidental Release Measures

**Personal Precautions:** Evacuate personnel to safe area. Use proper personal protective equipment as indicated in Section 8. Provide adequate ventilation.

**Environmental Precautions:** Avoid runoff into storm sewers and ditches which lead to waterways.

**Containment and Cleanup:** Remove all sources of ignition. Absorb with inert dry material, sweep or vacuum up and place in a suitable container for proper disposal. Wash spill area with soap and water.

**Precautions for Safe Handling:** Read label on container before using. Do not wear contact lenses when working with chemicals. Keep out of reach of children. Avoid contact with eyes, skin and clothing. Do not inhale vapors, spray or mist. Use with adequate ventilation. Avoid ingestion. Wash thoroughly after handling. Remove and wash clothing before reuse.

**Conditions for Safe Storage:** Store in a cool, dry, well-ventilated area away from incompatible substances. Keep away from ignition sources.

## Section 8 Exposure Controls / Personal Protection

Exposure Limits:	Chemical Name	ACGIH (TLV)	OSHA (PEL)	NIOSH (REL)
	Ethanol	STEL: 1000 ppm / 1880 mg/m <sup>3</sup> (A3)	TWA: 1000 ppm / 1900 mg/m <sup>3</sup>	TWA: 1000 ppm / 1900 mg/m <sup>3</sup>

**Engineering controls:** Facilities storing or utilizing this material should be equipped with an eyewash facility and a safety shower and fire extinguishing material. Personnel should wear safety glasses, goggles, or faceshield, lab coat or apron, appropriate protective gloves. Use adequate ventilation to keep airborne concentrations low.

**Respiratory protection:** None should be needed in normal laboratory handling at room temperatures. If misty conditions prevail, work in fume hood or wear a NIOSH/MSHA-approved respirator.

## Section 9 Physical &amp; Chemical Properties

<b>Appearance:</b> Clear, colorless liquid. <b>Odor:</b> Mild characteristic odor. <b>Odor threshold:</b> Data not available. <b>pH:</b> Data not available. <b>Melting / Freezing point:</b> -114°C (-173°F)* <b>Boiling point:</b> 74-80°C (165.2-176°F)* <b>Flash point:</b> 14.4°C (58°F) TCC*	<b>Evaporation rate ( Butyl acetate = 1):</b> Ca 2* <b>Flammability (solid/gas):</b> Data not available. <b>Explosion limits: Lower / Upper:</b> 3.28% / 36%* <b>Vapor pressure (mm Hg):</b> Ca 50 @ 20°C* <b>Vapor density (Air = 1):</b> Ca 1.5* <b>Relative density (Specific gravity):</b> 0.7919-0.7955°C @ 60/60°F* <b>Solubility(ies):</b> Soluble in water.	<b>Partition coefficient: (n-octanol / water):</b> Low Pow: -.32* <b>Auto-ignition temperature:</b> 383°C (721°F)* <b>Decomposition temperature:</b> Data not available. <b>Viscosity:</b> Data not available. <b>Molecular formula:</b> Mixture <b>Molecular weight:</b> Mixture * [200 Proof Ethanol]
--	---	---

## Section 10 Stability &amp; Reactivity

**Chemical stability:** Stable **Hazardous polymerization:** Will not occur.

**Conditions to avoid:** Excessive temperatures, heat, sparks, open flame and other sources of ignition.

**Incompatible materials:** Strong oxidizers, inorganic acids and halogens.

**Hazardous decomposition products:** Oxides of carbon.

## Section 11 Toxicological Information

**Acute toxicity:** Oral-rat LD50: 7060 mg/kg ; Inhalation-rat LC50: 124.7 mg/l/4hours [Ethanol]

**Skin corrosion/irritation:** Skin-rabbit - Slight irritant.

**Serious eye damage/irritation:** Eyes-rabbit - Severe irritant.

**Respiratory or skin sensitization:** Data not available

**Germ cell mutagenicity:** Data not available

**Carcinogenicity:** Data not available

NTP: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a known or anticipated carcinogen by NTP.

IARC classified: Group 3: Not classifiable as to its carcinogenicity to humans. [Isopropanol]

OSHA: No component of this product present at levels greater than or equal to 0.1% is identified as a carcinogen or potential carcinogen by OSHA.

**Reproductive toxicity:** Data not available

**STOT-single exposure:** The substance or mixture is classified as specific target organ toxicant, single exposure, category 3 with narcotic effects.

**STOT-repeated exposure:** Data not available

**Aspiration hazard:** Data not available

**Potential health effects:**

Inhalation: Inhalation may cause dizziness, drowsiness, nausea, vomiting, inability to concentrate and irritation of the throat.

Ingestion: Ingestion causes dizziness, drowsiness, decreased reaction, euphoria, nausea, vomiting, staggering gait and coma.

Skin: Contact with skin causes irritation defatting on prolonged contact.

Eyes: Contact with eyes may cause blindness.

**Signs and symptoms of exposure:** See Potential health effects above.

**Additional information:** RTECS #: KQ6300000 [Ethanol]

## Section 12 Ecological Information

**Toxicity to fish:** Oncorhynchus mykiss (fish, fresh water), LC50 = 11,200 mg/l/24 hours [Ethanol]

**Toxicity to daphnia and other aquatic invertebrates:** Daphnia magna (Crustacia), EC50 = 10,800 mg/l/24 hours [Ethanol, 99.8% pure]

**Toxicity to algae:** Chlorella pyrenoidosa (Algae), EC50 = 9,310 mg/l/growth rate [Ethanol, absolute]

**Persistence and degradability:** No data available **Bioaccumulative potential:** No data available

**Mobility in soil:** No data available **PBT and vPvB assessment:** No data available

**Other adverse effects:** An environmental hazard cannot be excluded in the event of unprofessional handling or disposal.

## Section 13 Disposal Considerations

These disposal guidelines are intended for the disposal of catalog-size quantities only. Federal regulations may apply to empty container. State and/or local regulations may be different. Dispose of in accordance with all local, state and federal regulations or contract with a licensed chemical disposal agency.

## Section 14 Transport Information (US DOT / CANADA TDG)

**UN/NA number:** UN1170 **Shipping name:** Ethanol solution

**Hazard class:** 3

**Packing group:** II

**Reportable Quantity:** 5,000 lbs (2270 kg)

**Marine pollutant:** No

**Exceptions:** Limited quantity equal to or less than 1 L

**2012 ERG Guide #** 127

## Section 15 Regulatory Information

A chemical is considered to be listed if the CAS number for the anhydrous form is on the Inventory list.

Component	TSCA	CERLCA (RQ)	RCRA code	DSL	NDSL
Ethanol	Listed	Not listed	D001	Listed	Not listed
Methanol	Listed	5,000 lbs.	U154	Listed	Not listed
Isopropanol	Listed	Not listed	Not listed	Listed	Not listed

## Section 16 Other Information

The information contained herein is furnished without warranty of any kind. Employers should use this information only as a supplement to other information gathered by them and must make independent determinations of suitability and completeness of information from all sources to assure proper use of these materials and the safety and health of employees. NTP: National Toxicology Program, IARC: International Agency for Research on Cancer, OSHA: Occupational Safety and Health Administration, STOT: Specific Target Organ Toxicity, SE: Single Exposure, RE: Repeated Exposure, ERG: Emergency Response Guidebook.

## Section 1 L'identification de produit chimique et de compagnie

Page F1 of F2



5100 West Henrietta Rd  
PO Box 92912  
Rochester, NY 14692-9012  
Tel: (800) 962-2660

Boreal Science  
399 Vansickle Road  
St. Catharines, Ontario  
L2S 3T4 Canada  
Tel: (800) 387-9393

**CHEMTREC 24 Numéros De Téléphone  
De Secours D'Heure (800) 424-9300**  
Pour l'usage de laboratoire seulement.  
Pas pour l'usage de drogue, de nourriture  
ou de ménage.

**Produit** THYMOLPHTALÉINE, 0,04% SOLUTION

**Synonymes** Thymolphtaléine Solution, 0,04% / Thymolphtaléine, 0,04% dans l'alcool éthylique / Thymolphtaléine, 0,04% dans l'alcool / Thymolphtaléine, solution d'indicateur, 0,04% (alcoolisées)

## Section 2 Identification De Risques

**Mention d'avertissement:** DANGER

**Pictogrammes:** GHS02 / GHS07 / GHS08 / GHS06

**Les organes cibles:** Les yeux, le système nerveux central, le foie et les reins.



**Classification par le GHS:**

Flam. liq. (Catégorie 2)

Acute tox. (Catégorie 3)

Skin irrit. (Catégorie 2)

Eye irrit. (Catégorie 2B)

STOT-SE (Catégorie 2)

STOT-SE (Catégorie 3)

**Renseignements sur l'étiquette GHS: Mention de danger:**

H225: Liquide et vapeurs très inflammables.

H315: Provoque une irritation cutanée.

H319: Provoque une sévère irritation des yeux.

H331: Toxique par inhalation.

H336: Peut provoquer somnolence ou des vertiges.

H371: Risque présumé d'effets graves pour les organes.

**Déclarations de précaution:**

P210: Tenir à l'écart la chaleur/des étincelles/des flammes nues/des surfaces chaudes. Ne pas fumer.

P240: Mise à la terre/liaison équipotentielle du récipient et du matériel de réception.

P241: Utiliser du matériel électrique/de ventilation/d'éclairage antidéflagrant.

P242: Ne pas utiliser d'outils produisant des étincelles.

P243: Prendre des mesures de précaution contre les décharges électrostatiques.

P260: Ne pas respirer les brouillards/vapeurs/aérosols.

P264: Se laver les mains soigneusement après manipulation.

P271: Utiliser seulement en plein air ou dans un endroit bien ventilé.

P280: Porter des gants de protection / des vêtements de protection / un équipement de protection des yeux / du visage.

P305+P351+P338: EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX: Rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.

P303+P361+P353: EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux): Enlever immédiatement tout vêtement souillé ou éclaboussé. Rincer la peau à l'eau/se doucher.

P304+P340: EN CAS D'INHALATION: Transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.

P312: Appeler un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.

P332+P313: En cas d'irritation cutanée: Obtenir des soins médicaux.

P337+P313: Si l'irritation oculaire persiste: Obtenir des soins médicaux.

P362+P364: Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.

P403+P233: Stocker dans un endroit bien ventilé. Maintenir le récipient fermé de manière étanche.

P501: Éliminer le contenu / récipient dans une agence agréée d'élimination chimique conformément à la réglementation locale / régionale / nationale.

California Proposition 65: Ce produit contient un produit chimique connu dans l'état de Californie pour provoquer une toxicité sur la reproduction (Méthanol, développement).

## Section 3 Composition / Information Sur Des Ingrédients

Nommé Chimique	# CAS	%	EINECS
Alcool éthylique	64-17-5	85,0 - 85,8%	200-578-6
Alcool isopropylique	67-63-0	9,0%	200-661-7
Méthanol	67-56-1	4,0 - 4,3%	200-659-6
Cetone isobutylique méthylique	108-10-1	0,9 - 1,0%	203-550-1
Thymolphtaléine	125-20-2	0,04%	204-729-7

## Section 4 Mesures De Premiers Soins

**INGESTION:** PEUT ÊTRE NOCIF EN CAS D'INGESTION. Appeler un médecin ou un centre antipoison immédiatement. Provoquer le vomissement seulement si elle est informée par le personnel compétent médicaux. Ne jamais rien donner par la bouche à une personne inconsciente.

**INHALATION:** PEUT ÊTRE NOCIF EN CAS D'INHALATION. IRRITE LES VOIES RESPIRATOIRES. Sortir au grand air. Si elle ne respire pas, pratiquer la respiration artificielle. Si la respiration est difficile, donner de l'oxygène. Obtenir des soins médicaux.

**CONTACT AVEC LES YEUX:** CAUSE L'IRRITATION DES YEUX. Vérifier et enlever les lentilles de contact. Rincer abondamment à l'eau pendant au moins 15 minutes, en soulevant les paupières inférieures et supérieures de temps en temps. Obtenez une attention médicale immédiate.

**ABSORPTION PAR LA PEAU:** PEUT ÊTRE NOCIF EN CAS D'ABSORPTION PAR LA PEAU. CAUSER UNE IRRITATION DE LA PEAU. Enlever les vêtements contaminés. Rincer soigneusement avec du savon doux et d'eau. En cas d'irritation, consulter un médecin.

## Section 5 Mesures De Lutte Contre l'Incendie

**Moyens d'extinction:** Dioxyde de carbone, produit chimique sec, du sable sec, mousse anti-alcool.

**Actions de protection pour les sapeurs-pompiers:** En cas d'incendie, porter un appareil respiratoire NIOSH / MSHA approuvé autonome et un équipement complet de protection. Utiliser un jet d'eau pour maintenir incendie refroidir les conteneurs exposés.

**Dangers spécifiques:** En cas d'incendie, des gaz irritants et très toxiques peuvent être générés par la décomposition thermique ou la combustion. Les vapeurs formées de ce produit sont plus lourdes que l'air et peuvent voyager le long de la terre à une source d'ignition et voyagez dos immédiatement. La flamme peut ne pas être évidente en jour.

## Section 6 Mesures De Déchargement Accidentel

**Précautions personnelles:** Évacuer le personnel vers la zone sûre. Utiliser un équipement de protection personnelle comme indiqué dans la Section 8. Assurer une ventilation adéquate.

**Précautions environnementales:** Éviter tout ruissellement vers les égouts pluviaux et les fossés qui aboutissent aux voies navigables.

**Confinement et de nettoyage:** Absorbent avec le matériel sec inerte, balayez ou nettoyez à l'aspirateur vers le haut et placez dans un récipient approprié pour la disposition appropriée. Laver la zone de déversement avec du savon et de l'eau.

**Précautions pour la manutention en toute sécurité:** Lire l'étiquette sur le contenant avant d'utiliser. Ne pas porter de lentilles cornéennes lorsque vous travaillez avec des produits chimiques. Tenir hors de portée des enfants. Éviter tout contact avec les yeux, la peau et les vêtements. Ne pas inhaler les vapeurs, les embruns ou le brouillard. Utiliser avec une ventilation adéquate. Éviter l'ingestion. Bien se laver après la manipulation. Retirer et laver les vêtements avant de les réutiliser.

**Conditions de stockage:** Stocker dans un endroit frais, sec et bien aéré, loin des substances incompatibles. Substance loin des sources d'allumage.

## Section 8 Commandes D'Exposition / Protection Personnelle

Limites d'exposition:	Nommé Chimique	ACGIH (TLV)	OSHA (PEL)	NIOSH (REL)
	Éthanol	STEL: 1000 ppm / 1880 mg/m <sup>3</sup> (A3)	TWA: 1000 ppm / 1900 mg/m <sup>3</sup>	TWA: 1000 ppm / 1900 mg/m <sup>3</sup>

**Contrôles d'ingénierie:** Les installations d'entreposage ou d'utilisation de ce matériel doit être équipé d'une douche oculaire et une douche de sécurité et le matériel d'extinction d'incendie. Le personnel doit porter des lunettes de sécurité, des lunettes, ou un écran facial, une blouse de laboratoire ou tablier, des gants protecteurs appropriés. Utiliser une ventilation adéquate pour maintenir les concentrations atmosphériques faible.

**Protection respiratoire:** Aucun ne devrait être nécessaire dans le laboratoire normal manipulant aux températures ambiantes. En cas de les conditions brumeux, travaillez dans le capot de vapeur ou portez un respirateur de NIOSH/MSHA-approved.

## Section 9 Propriétés Physiques Et Chimiques

<b>Apparence:</b> Clair, liquide incolore.	<b>Taux d'évaporation (Acétate de butylique = 1):</b> Ca 2*	<b>Coefficient de partage: (n-octanol / eau):</b> Low Pow: -.32*
<b>Odeur:</b> Odeur caractéristique douce.	<b>Inflammabilité (solide / gaz):</b> Données non disponibles.	<b>Auto-inflammation:</b> 383°C (721°F)*
<b>Seuil de l'odeur:</b> Données non disponibles.	<b>Limites d'explosivité: Bas / Max:</b> 3.28% / 36%*	<b>Température de décomposition:</b> Données non disponibles.
<b>pH:</b> Données non disponibles.	<b>Pression de vapeur (mm Hg):</b> Ca 50 @ 20°C*	<b>Viscosité:</b> Données non disponibles.
<b>Point de fusion / congélation:</b> -114°C (-173°F)*	<b>Densité de vapeur (Air = 1):</b> Ca 1.5*	<b>Formule moléculaire:</b> Mélange
<b>Point d'ébullition:</b> 74-80°C (165.2-176°F)*	<b>Densité relative (gravité spécifique):</b> 0.7919-0.7955°C @ 60/60°F*	<b>Poids moléculaire:</b> Mélange
<b>Point d'éclair:</b> 14,4°C (58°F)*	<b>Solubilité (s):</b> Soluble dans l'eau.	*[200 Proof Éthanol]

## Section 10 Stabilité Et Réactivité

**Stabilité chimique:** Stable

**Polymérisation dangereuse:** N'aura pas lieu.

**Conditions à éviter:** Les températures excessives, la chaleur, étincelles, flamme nue et d'autres sources d'allumage.

**Matières incompatibles:** Comburentes fortes, acides inorganiques et l'halogènes.

**Produits dangereux de décomposition:** Oxydes de carbones.

## Section 11 L'Information Toxicologique

**Toxicité aiguë:** Oral-rat LD50: 7060 mg/kg ; Inhalation-rat LC50: 124.7 mg/l/4 heures [Éthanol]

**La corrosion de la peau et l'irritation:** Peau de lapin - Légèrement irritant.

**Des lésions oculaires graves / irritation:** Yeux-lapin - Irritant sévère.

**Respiratoire ou sensibilisation de la peau:** Données non disponibles

**Mutagenicité des cellules germinales:** Donnée s non disponibles

**Cancérogène:** Données non disponibles

**NTP:** Aucun composant de ce produit présent à des niveaux supérieurs ou égaux à 0,1% n'a été identifié comme cancérogène reconnu ou présumé par NTP.

**IARC classés:** Group 3: L'agent est inclassable quant à sa cancérogénicité pour l'homme. [Isopropanol]

**OSHA:** Aucun composant de ce produit présent à des niveaux supérieurs ou égaux à 0,1% n'a été identifié comme cancérogène ni comme cancérogène possible par OSHA.

**Reproductive toxicity:** Données non disponibles

**STOT-exposition unique:** La substance ou le mélange est classé comme toxique pour certains organes cibles, exposition unique, catégorie 3 avec des effets narcotiques.

**STOT-une exposition répétée:** Données non disponibles

**Risque d'aspiration:** Données non disponibles

**Effets d'une surexposition:**

**Inhalation:** L'inhalation peut causer des étourdissements, somnolence, nausées, vomissements, incapacité à se concentrer et l'irritation de la gorge.

**Ingestion:** L'ingestion provoque des étourdissements, la somnolence, la réaction a diminué, l'euphorie, des nausées, des vomissements, démarche titubante et le coma.

**Peau:** Contact avec la peau cause une irritation délipidation au contact prolongé.

**Yeux:** Contact avec les yeux peut causer la cécité.

**Les signes et les symptômes de l'exposition:** Voir les effets sanitaires potentiels ci-dessus.

**Informations complémentaires:** RTECS #: KQ6300000 [Éthanol]

## Section 12 L'Information Écologique

**Toxicité pour les poissons:** Oncorhynchus mykiss (fish, fresh water), LC50 = 11,200 mg/l/24 hours [Éthanol]

**Toxicité pour les daphnies et autres invertébrés aquatiques:** Daphnia magna (Crustacia), EC50 = 10,800 mg/l/24 hours [Éthanol, 99.8% pure]

**Toxicité pour les algues:** Chlorella pyrenoidosa (Algae), EC50 = 9,310 mg/l/growth rate [Éthanol, absolute]

**Persistance et dégradabilité:** Pas de données disponible

**Potentiel de bioaccumulation:** Pas de données disponible

**Mobilité dans le sol:** Pas de données disponibles

**Évaluation PBT et vPvB:** Pas de données disponibles

**Autres effets indésirables:** Un danger pour l'environnement ne peut pas être exclu dans l'éventualité d'une manipulation ou d'élimination.

## Section 13 Considérations De Disposition

Ces lignes directrices sont destinées à l'élimination de la disposition d'un catalogue de taille seules les quantités. Les règlements fédéraux peuvent s'appliquer aux contenants vides. Des réglementations nationales et / ou local peut être différent. Éliminer conformément à toutes les réglementations locales, provinciales et fédérales ou d'un contrat avec une agence élimination des produits chimiques sous licence.

## Section 14 L'Information De Transport (US DOT / CANADA TMD)

**Numéro UN / NA:** UN1170

**Nom d'expédition:** Solution d'éthanol

**Classe de danger:** 3

**Groupe d'emballage:** II

**Quantité à déclarer:** 5,000 lbs. (2270 kg)

**Polluant marin:** No

**Exceptions:** Quantité limitée égale à ou moins de 1 L

**2012 ERG Guide #:** 127

## Section 15 L'Information De Normalisation

Un produit chimique est considéré comme inscrit si le numéro CAS pour la forme anhydre est sur la liste d'inventaire.

Composant	TSCA	CERLCA (RQ)	RCRA code	DSL	NDSL
Éthanol	Listed	Not listed	D001	Listed	Not listed
Méthanol	Listed	5,000 lbs.	U154	Listed	Not listed
Isopropanol	Listed	Not listed	Not listed	Listed	Not listed

## Section 16 L'autre Information

Les informations contenues dans ce document sont fournis sans garantie d'aucune sorte. Les employeurs devraient considérer cette information seulement comme complément à d'autres informations recueillies par eux et doivent prendre des décisions indépendantes de la pertinence et l'exhaustivité de l'information de toutes les sources afin d'assurer une utilisation correcte de ces matériaux et de la sécurité et la santé des employés. NTP: National Toxicology Program, IARC: International Agency for Research on Cancer, OSHA: Occupational Safety and Health Administration, STOT: Specific Target Organ Toxicity, SE: Single Exposure, RE: Repeated Exposure, ERG: Emergency Response Guidebook.

# Safety Data Sheet

according to the (US) Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200)

Revision date: 23.04.2018

Version: 6.0

Print date: 23.04.2018

## SECTION 1: Identification

### Product identifier

Trade name/designation:	Cobalt (II) chloride solution
Product No.:	SciEd4
Synonyms:	no data available
CAS No.:	not applicable
Other means of identification:	

### Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against

Recommended Use:	For Further Manufacturing Use Only
Uses advised against:	Not for Human or Animal Drug Use

### Details of the supplier of the safety data sheet

#### Supplier

##### **VWR International LLC**

Street	100 Matsonford Road Radnor Corporate Center, Building One, Suite 200 P. O. Box 6660
Postal code/city	Radnor, PA 19087
Telephone	+1-800-932-5000 toll-free within US/Canada +1-610-386-1700
Telefax:	+1-610-728-2103

### Emergency telephone

Telephone +1-800-424-9300 (Chemtrec, 24 hrs/day, 7 days/week, USA)

### Preparation Information

VWR International - Product Information Compliance

E-mail sds@vwr.com

## SECTION 2: Hazards identification

### 2.1 Classification of the substance or mixture

#### GHS Classification in accordance with 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS)

Hazard classes and hazard categories	Hazard statements
Carcinogenicity, category 1B	H350
Germ cell mutagenicity, category 2	H341
Reproductive toxicity, category 1A	H360
Respiratory sensitization, category 1	H334
Skin sensitization, category 1	H317

### 2.2 Label elements

#### Labelling in accordance with 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS)

#### Hazard pictograms



Signal word: Danger

Hazard statements	
H350	May cause cancer.
H341	Suspected of causing genetic defects.
H360	May damage fertility or the unborn child.
H334	May cause allergy or asthma symptoms or breathing difficulties if inhaled.
H317	May cause an allergic skin reaction.

Precautionary statements	
P201	Obtain special instructions before use.
P280	Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.
P284	[In case of inadequate ventilation] wear respiratory protection.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of water/...
P304+P340	IF INHALED: Remove person to fresh air and keep comfortable for breathing.
P308+P311	IF exposed or concerned: Call a POISON CENTER/doctor/...

**Hazards not otherwise classified (HNOC)**  
none/none

## SECTION 3: Composition / information on ingredients

### 3.1 Substances

not applicable

### 3.2 Mixtures

**Hazardous ingredients Classification according to the OSHA Hazard Communication Standard 29 CFR 1910.1200**

Substance name	Concentration	Product identifier	Hazard classes and hazard categories
Cobalt (II) chloride	2.32%	CAS No.: 7646-79-9	Carc. 1B - H350i Muta. 2 - H341 Repr. 1B - H360F Acute Tox. 4 - H302 Resp. Sens. 1 - H334 Skin Sens. 1 - H317

## SECTION 4: First aid measures

### 4.1 General information

IF exposed or if you feel unwell: Call a POISON CENTER or doctor/physician. If unconscious place in recovery position and seek medical advice. Never give anything by mouth to an unconscious person or a person with cramps. Change contaminated, saturated clothing. Do not leave affected person unattended.

#### After inhalation

Call a POISON CENTER/doctor. Remove casualty to fresh air and keep warm and at rest. If breathing is irregular or stopped, administer artificial respiration.

#### In case of skin contact

After contact with skin, wash immediately with plenty of water and soap. Remove contaminated, saturated clothing immediately. In case of skin reactions, consult a physician.

#### After eye contact

In case of contact with eyes flush immediately with plenty of flowing water for 10 to 15 minutes holding eyelids apart and consult an ophthalmologist. Protect uninjured eye. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

#### **In case of ingestion**

If accidentally swallowed rinse the mouth with plenty of water (only if the person is conscious) and obtain immediate medical attention. Do NOT induce vomiting. Give nothing to eat or drink.

#### **4.2 Most important symptoms/effects, acute and delayed**

no data available

#### **4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed**

no data available

#### **4.4 Self-protection of the first aider**

First aider: Pay attention to self-protection!

#### **4.5 Information to physician**

no data available

### **SECTION 5: Firefighting measures**

#### **5.1 Extinguishing media**

##### **Suitable extinguishing media**

The product itself does not burn.

Co-ordinate fire-fighting measures to the fire surroundings.

##### **Extinguishing media which must not be used for safety reasons**

no restriction

#### **5.2 Specific hazards arising from the chemical**

In case of fire may be liberated:

Pyrolysis products, toxic

#### **5.3 Advice for firefighters**

DO NOT fight fire when fire reaches explosives.

Protective equipment and precautions for firefighters

Wear a self-contained breathing apparatus and chemical protective clothing.

##### **Additional information**

Do not allow run-off from fire-fighting to enter drains or water courses.

Do not inhale explosion and combustion gases.

Use water spray/stream to protect personnel and to cool endangered containers.

In case of fire: Evacuate area.

### **SECTION 6: Accidental release measures**

#### **6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures**

In case of major fire and large quantities: Remove persons to safety.

#### **6.2 Environmental precautions**

Discharge into the environment must be avoided.



### 6.3 Methods and material for containment and cleaning up

Spilled product must never be returned to the original container for recycling. Collect in closed and suitable containers for disposal.

### 6.4 Additional information

Clear spills immediately.

## SECTION 7: Handling and storage

### 7.1 Precautions for safe handling

All work processes must always be designed so that the following is as low as possible: Inhalation skin contact Eye contact Use extractor hood (laboratory). If handled uncovered, arrangements with local exhaust ventilation have to be used. If local exhaust ventilation is not possible or not sufficient, the entire working area must be ventilated by technical means.

### 7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

Recommended storage temperature: no data available

Keep container tightly closed and in a well-ventilated place. Keep/Store only in original container.

### 7.3 Specific end use(s)

no data available

## SECTION 8: Exposure controls/personal protection

### 8.1 Control parameters

Does not contain substances above concentration limits fixing an occupational exposure limit.

### 8.2 Engineering controls

#### Appropriate engineering controls

Technical measures and the application of suitable work processes have priority over personal protection equipment. If handled uncovered, arrangements with local exhaust ventilation have to be used.

#### Personal protection equipment (PPE)

Wear suitable protective clothing. When handling with chemical substances, protective clothing must be worn.

#### *Eye/face protection*

Eye glasses with side protection

#### *Skin protection*

Wear suitable gloves. When handling with chemical substances, protective gloves must be worn. In the case of wanting to use the gloves again, clean them before taking off and air them well. Check leak tightness/impermeability prior to use.

#### *Respiratory protection*

Respiratory protection necessary at: aerosol or mist formation If exposure limits are exceeded or irritation is experienced, NIOSH approved respiratory protection should be worn.

#### *Additional information*

Wash hands before breaks and after work. Avoid contact with skin and eyes. When using do not eat, drink or smoke. Provide eye shower and label its location conspicuously.

#### *Environmental exposure controls*

no data available

## SECTION 9: Physical and chemical properties

### 9.1 Information on basic physical and chemical properties

(a) Appearance	
Physical state:	liquid
Color:	no data available
(b) Odour:	no data available
(c) Odour threshold:	no data available

#### Safety relevant basic data

(d) pH:	no data available
(e) Melting point/freezing point:	no data available
(f) Initial boiling point and boiling range:	no data available
(g) Flash point:	no data available
(h) Evaporation rate:	no data available
(i) Flammability (solid, gas):	not applicable
(j) Flammability or explosive limits	
Lower explosion limit:	no data available
Upper explosion limit:	no data available
(k) Vapour pressure:	no data available
(l) Vapour density:	no data available
(m) Relative density:	no data available
(n) Solubility(ies)	
Water solubility (g/L):	no data available
Soluble (g/L) in Ethanol:	no data available
(o) Partition coefficient: n-octanol/water:	no data available
(p) Auto-ignition temperature:	no data available
(q) Decomposition temperature:	no data available
(r) Viscosity	
Kinematic viscosity:	no data available
Dynamic viscosity:	no data available
(s) Explosive properties:	not applicable
(t) Oxidising properties:	not applicable

### 9.2 Other information

Bulk density:	not applicable
Refraction index:	no data available
Dissociation constant:	no data available
Surface tension:	no data available
Henry constant:	no data available

## SECTION 10: Stability and reactivity

### 10.1 Reactivity

no data available

## 10.2 Chemical stability

The product is chemically stable under standard ambient conditions (room temperature) .

## 10.3 Possibility of hazardous reactions

no data available

## 10.4 Conditions to avoid

no data available

## 10.5 Incompatible materials

no data available

## 10.6 Hazardous decomposition products

no data available

## 10.7 Additional information

no data available

# SECTION 11: Toxicological information

## 11.1 Information on toxicological effects

### Acute effects

#### *Acute oral toxicity:*

Cobalt (II) chloride - LD50: > 418 mg/kg - Rat - (RTECS)

#### *Acute dermal toxicity:*

Cobalt (II) chloride - LDLo: > 2000 mg/kg - Rat - (RTECS)

#### *Acute inhalation toxicity:*

no data available

### Irritant and corrosive effects

#### *Primary irritation to the skin:*

not applicable

#### *Irritation to eyes:*

not applicable

#### *Irritation to respiratory tract:*

not applicable

**Respiratory or skin sensitization**

In case of skin contact: sensitising

After inhalation: sensitising

**STOT-single exposure**

not applicable

**STOT-repeated exposure**

not applicable

**CMR effects (carcinogenicity, mutagenicity and toxicity for reproduction)**

**Carcinogenicity**

The table below indicates whether each agency has listed any ingredient as a carcinogen.

no data available	ACGIH	IARC	NTP	OSHA

**Germ cell mutagenicity**

Suspected of causing genetic defects.

**Reproductive toxicity**

May damage fertility or the unborn child.

**Aspiration hazard**

not applicable

**Other adverse effects**

no data available

**Additional information**

no data available

**SECTION 12: Ecological information**

**12.1 Ecotoxicity**

**Fish toxicity:**

no data available

**Daphnia toxicity:**

no data available

**Algae toxicity:**

no data available

**Bacteria toxicity:**

no data available

## 12.2 Persistence and degradability

no data available

## 12.3 Bioaccumulative potential

Partition coefficient: n-octanol/water: no data available

## 12.4 Mobility in soil:

no data available

## 12.5 Results of PBT/vPvB assessment

no data available

## 12.6 Other adverse effects

no data available

## SECTION 13: Disposal considerations

### 13.1 Waste treatment methods

#### Appropriate disposal / Product

Dispose according to legislation. Consult the appropriate local waste disposal expert about waste disposal.

Waste code product: no data available

#### Appropriate disposal / Package

Dispose according to legislation. Handle contaminated packages in the same way as the substance itself.

#### Additional information

no data available

## SECTION 14: Transport information

### Land transport (DOT)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

### Sea transport (IMDG)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

Transport in bulk according to Annex II of MARPOL 73/78 and the IBC Code  
not relevant

### Air transport (ICAO-TI / IATA-DGR)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

## SECTION 15: Regulatory information

### Safety, health and environmental regulations/legislation specific for the substance or mixture

#### SARA 313 Components

Does not contain listed substances.

#### Massachusetts Right To Know Components

Does not contain listed substances.

#### Pennsylvania Right To Know Components

Does not contain listed substances.

#### New Jersey Right To Know Components

Does not contain listed substances.

#### California Prop. 65 Components

Does not contain listed substances.

## SECTION 16: Other information

### Abbreviations and acronyms

ACGIH - American Conference of Governmental Industrial Hygienists  
DOT - Department of Transportation  
IARC - International Agency for Research on Cancer  
IATA-DGR - International Air Transport Association-Dangerous Goods Regulations  
ICAO-TI - International Civil Aviation Organization-Technical Instructions  
IMDG - International Maritime Code for Dangerous Goods  
LTV - Long Term Value  
NIOSH - National Institute for Occupational Safety and Health  
NTP - National Toxicology Program  
OSHA - Occupational Safety & Health Administration  
PBT - Persistent, Bioaccumulative and Toxic  
PEL - Permissible Exposure Limit  
STV - Short Term Value  
SVHC - Substances of Very High Concern  
TDG - Transport of Dangerous Goods  
TLV - Threshold Limit Value  
vPvB - very Persistent, very Bioaccumulative

### Additional information

Indication of changes:                      general update

*The above information is believed to be correct but does not purport to be all-inclusive and shall be used only as a guidance. The information in this document is based on the present state knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. VWR International and his Affiliates shall not be held liable for any damage resulting from handling.*

# Safety Data Sheet

according to the (US) Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200)

Revision date: 23.04.2018

Version: 6.0

Print date: 23.04.2018

## SECTION 1: Identification

### Product identifier

Trade name/designation:	Sodium salicylate solution
Product No.:	SciEd2
Synonyms:	no data available
CAS No.:	not applicable
Other means of identification:	

### Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against

Recommended Use:	For Further Manufacturing Use Only
Uses advised against:	Not for Human or Animal Drug Use

### Details of the supplier of the safety data sheet

#### Supplier

##### **VWR International LLC**

Street	100 Matsonford Road Radnor Corporate Center, Building One, Suite 200 P. O. Box 6660
Postal code/city	Radnor, PA 19087
Telephone	+1-800-932-5000 toll-free within US/Canada +1-610-386-1700
Telefax:	+1-610-728-2103



## Emergency telephone

Telephone +1-800-424-9300 (Chemtrec, 24 hrs/day, 7 days/week, USA)

## Preparation Information

VWR International - Product Information Compliance

E-mail sds@vwr.com

## SECTION 2: Hazards identification

### 2.1 Classification of the substance or mixture

#### GHS Classification in accordance with 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS)

This mixture is classified as not hazardous according to regulation 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS)

### 2.2 Label elements

#### Labelling in accordance with 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS)

According to regulation 29 CFR 1910.1200 (OSHA HCS) the product does not have to be labelled.

#### Hazards not otherwise classified (HNOC)

Not regulated

## SECTION 3: Composition / information on ingredients

### 3.1 Substances

not applicable

### 3.2 Mixtures

#### Hazardous ingredients Classification according to the OSHA Hazard Communication Standard 29 CFR 1910.1200

Substance name	Concentration	Product identifier	Hazard classes and hazard categories
Sodium salicylate	5.66%	CAS No.: 54-21-7	Acute Tox. 4 - H302 Eye Irrit. 2 - H319

## SECTION 4: First aid measures

### 4.1 General information

When in doubt or if symptoms are observed, get medical advice. If unconscious place in recovery position and seek medical advice. Never give anything by mouth to an unconscious person or a person with cramps. Change contaminated, saturated clothing. Do not leave affected person unattended.

#### After inhalation

Remove casualty to fresh air and keep warm and at rest. If breathing is irregular or stopped, administer artificial respiration. In case of respiratory tract irritation, consult a physician.

#### **In case of skin contact**

After contact with skin, wash immediately with plenty of water and soap. Remove contaminated, saturated clothing immediately. In case of skin reactions, consult a physician.

#### **After eye contact**

In case of contact with eyes flush immediately with plenty of flowing water for 10 to 15 minutes holding eyelids apart and consult an ophthalmologist. Protect uninjured eye. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

#### **In case of ingestion**

If accidentally swallowed rinse the mouth with plenty of water (only if the person is conscious) and obtain immediate medical attention. Do NOT induce vomiting. Give nothing to eat or drink.

### **4.2 Most important symptoms/effects, acute and delayed**

no data available

### **4.3 Indication of any immediate medical attention and special treatment needed**

no data available

### **4.4 Self-protection of the first aider**

First aider: Pay attention to self-protection!

### **4.5 Information to physician**

no data available

## **SECTION 5: Firefighting measures**

### **5.1 Extinguishing media**

#### **Suitable extinguishing media**

The product itself does not burn.  
Co-ordinate fire-fighting measures to the fire surroundings.

#### **Extinguishing media which must not be used for safety reasons**

no restriction

### **5.2 Specific hazards arising from the chemical**

In case of fire may be liberated:  
Pyrolysis products, toxic

### **5.3 Advice for firefighters**

DO NOT fight fire when fire reaches explosives.  
Protective equipment and precautions for firefighters  
Wear a self-contained breathing apparatus and chemical protective clothing.

#### **Additional information**

Do not allow run-off from fire-fighting to enter drains or water courses.  
Do not inhale explosion and combustion gases.  
Use water spray/stream to protect personnel and to cool endangered containers.  
In case of fire: Evacuate area.

## SECTION 6: Accidental release measures

### 6.1 Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

In case of major fire and large quantities: Remove persons to safety.

### 6.2 Environmental precautions

Discharge into the environment must be avoided.

### 6.3 Methods and material for containment and cleaning up

Spilled product must never be returned to the original container for recycling. Collect in closed and suitable containers for disposal.

### 6.4 Additional information

Clear spills immediately.

## SECTION 7: Handling and storage

### 7.1 Precautions for safe handling

All work processes must always be designed so that the following is as low as possible: Inhalation skin contact Eye contact Use extractor hood (laboratory). If handled uncovered, arrangements with local exhaust ventilation have to be used. If local exhaust ventilation is not possible or not sufficient, the entire working area must be ventilated by technical means.

### 7.2 Conditions for safe storage, including any incompatibilities

Recommended storage temperature: no data available

Keep container tightly closed and in a well-ventilated place. Keep/Store only in original container.

### 7.3 Specific end use(s)

no data available

## SECTION 8: Exposure controls/personal protection

### 8.1 Control parameters

Does not contain substances above concentration limits fixing an occupational exposure limit.

### 8.2 Engineering controls

#### Appropriate engineering controls

Technical measures and the application of suitable work processes have priority over personal protection equipment. If handled uncovered, arrangements with local exhaust ventilation have to be used.

#### Personal protection equipment (PPE)

Wear suitable protective clothing. When handling with chemical substances, protective clothing must be worn.

#### *Eye/face protection*

Eye glasses with side protection

#### *Skin protection*

Wear suitable gloves. When handling with chemical substances, protective gloves must be worn. In the case of wanting to use the gloves again, clean them before taking off and air them well. Check leak tightness/impermeability prior to use.

#### *Respiratory protection*

Usually no personal respirative protection necessary.

*Additional information*

Wash hands before breaks and after work. Avoid contact with skin and eyes. When using do not eat, drink or smoke. Provide eye shower and label its location conspicuously.

*Environmental exposure controls*

no data available

## SECTION 9: Physical and chemical properties

### 9.1 Information on basic physical and chemical properties

(a) Appearance	
Physical state:	liquid
Color:	colorless
(b) Odour:	no data available
(c) Odour threshold:	no data available

#### Safety relevant basic data

(d) pH:	no data available
(e) Melting point/freezing point:	no data available
(f) Initial boiling point and boiling range:	no data available
(g) Flash point:	no data available
(h) Evaporation rate:	no data available
(i) Flammability (solid, gas):	not applicable
(j) Flammability or explosive limits	
Lower explosion limit:	no data available
Upper explosion limit:	no data available
(k) Vapour pressure:	no data available
(l) Vapour density:	no data available
(m) Relative density:	no data available
(n) Solubility(ies)	
Water solubility (g/L):	no data available
Soluble (g/L) in Ethanol:	no data available
(o) Partition coefficient: n-octanol/water:	no data available
(p) Auto-ignition temperature:	no data available
(q) Decomposition temperature:	no data available
(r) Viscosity	
Kinematic viscosity:	no data available
Dynamic viscosity:	no data available
(s) Explosive properties:	not applicable
(t) Oxidising properties:	not applicable

### 9.2 Other information

Bulk density:	not applicable
Refraction index:	no data available
Dissociation constant:	no data available
Surface tension:	no data available
Henry constant:	no data available

## SECTION 10: Stability and reactivity

### 10.1 Reactivity

no data available

### 10.2 Chemical stability

The product is chemically stable under standard ambient conditions (room temperature) .

### 10.3 Possibility of hazardous reactions

no data available

### 10.4 Conditions to avoid

no data available

### 10.5 Incompatible materials

no data available

### 10.6 Hazardous decomposition products

no data available

### 10.7 Additional information

no data available

## SECTION 11: Toxicological information

### 11.1 Information on toxicological effects

#### Acute effects

*Acute oral toxicity:*

Sodium salicylate - LD50: > 930 mg/kg - Rat - (RTECS)

Sodium salicylate - LDLo: > 700 mg/kg - Human - (RTECS)

*Acute dermal toxicity:*

no data available

*Acute inhalation toxicity:*

no data available

#### Irritant and corrosive effects

*Primary irritation to the skin:*

not applicable

*Irritation to eyes:*

not applicable

*Irritation to respiratory tract:*

not applicable

**Respiratory or skin sensitization**

In case of skin contact: not sensitising

After inhalation: not sensitising

**STOT-single exposure**

not applicable

**STOT-repeated exposure**

not applicable

**CMR effects (carcinogenicity, mutagenicity and toxicity for reproduction)**

**Carcinogenicity**

The table below indicates whether each agency has listed any ingredient as a carcinogen.

no data available	ACGIH	IARC	NTP	OSHA

**Germ cell mutagenicity**

No indications of human germ cell mutagenicity exist.

**Reproductive toxicity**

No indications of human reproductive toxicity exist.

**Aspiration hazard**

not applicable

**Other adverse effects**

no data available

**Additional information**

no data available

**SECTION 12: Ecological information**

**12.1 Ecotoxicity**

**Fish toxicity:**

no data available

**Daphnia toxicity:**

no data available

**Algae toxicity:**

no data available

**Bacteria toxicity:**

no data available

## 12.2 Persistence and degradability

no data available

## 12.3 Bioaccumulative potential

Partition coefficient: n-octanol/water: no data available

## 12.4 Mobility in soil:

no data available

## 12.5 Results of PBT/vPvB assessment

no data available

## 12.6 Other adverse effects

no data available

# SECTION 13: Disposal considerations

## 13.1 Waste treatment methods

### Appropriate disposal / Product

Dispose according to legislation. Consult the appropriate local waste disposal expert about waste disposal.

Waste code product: no data available

### Appropriate disposal / Package

Dispose according to legislation. Handle contaminated packages in the same way as the substance itself.

### Additional information

no data available

# SECTION 14: Transport information

## Land transport (DOT)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

## Sea transport (IMDG)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

Transport in bulk according to Annex II of MARPOL 73/78 and the IBC Code  
not relevant

## Air transport (ICAO-TI / IATA-DGR)

No dangerous good in sense of this transport regulation.

## SECTION 15: Regulatory information

### Safety, health and environmental regulations/legislation specific for the substance or mixture

#### SARA 313 Components

Does not contain listed substances.

#### Massachusetts Right To Know Components

Does not contain listed substances.

#### Pennsylvania Right To Know Components

Does not contain listed substances.

#### New Jersey Right To Know Components

Does not contain listed substances.

#### California Prop. 65 Components

Does not contain listed substances.



## SECTION 16: Other information

### Abbreviations and acronyms

ACGIH - American Conference of Governmental Industrial Hygienists  
DOT - Department of Transportation  
IARC - International Agency for Research on Cancer  
IATA-DGR - International Air Transport Association-Dangerous Goods Regulations  
ICAO-TI - International Civil Aviation Organization-Technical Instructions  
IMDG - International Maritime Code for Dangerous Goods  
LTV - Long Term Value  
NIOSH - National Institute for Occupational Safety and Health  
NTP - National Toxicology Program  
OSHA - Occupational Safety & Health Administration  
PBT - Persistent, Bioaccumulative and Toxic  
PEL - Permissible Exposure Limit  
STV - Short Term Value  
SVHC - Substances of Very High Concern  
TDG - Transport of Dangerous Goods  
TLV - Threshold Limit Value  
vPvB - very Persistent, very Bioaccumulative

### Additional information

Indication of changes:                      general update

*The above information is believed to be correct but does not purport to be all-inclusive and shall be used only as a guidance. The information in this document is based on the present state knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. VWR International and his Affiliates shall not be held liable for any damage resulting from handling.*

## RE: PRESERVED SHEEP BRAINS FOR DISSECTION

January 6, 2022

To Whom It May Concern,

The sheep brains used by Ward's Science in their educational kits for PLTW are all obtained from reputable USDA Class B dealers. The USDA has a National Scrapie Eradication Program to eliminate the scrapie prion disease from US sheep and goat herds; as a result, the incidence of scrapie in US herds is only approximately 0.002%<sup>1</sup>. In addition, the USDA considers scrapie to be transmissible only to sheep and goats<sup>2</sup>.

Best Regards,

A handwritten signature in black ink, appearing to read "John Francois".

John Francois, Ph.D.  
Life Sciences Portfolio Manager  
Ward's Science/Part of VWR/Part of Avantor  
[john.francois@avantorsciences.com](mailto:john.francois@avantorsciences.com)  
862-226-9496

<sup>1</sup><https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/nvap/NVAP-Reference-Guide/Control-and-Eradication/Scrapie>

<sup>2</sup>[https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/sa\\_animal\\_disease\\_information/sheep-goat/disease-info/index](https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/animalhealth/sa_animal_disease_information/sheep-goat/disease-info/index)



# SAFETY DATA SHEET

Issuing Date No data available

Revision Date 28-Feb-2017

Revision Number 1

## 1. PRODUCT AND COMPANY IDENTIFICATION

**Product Identifier**

**Product Name** Pure Preserved Specimens

**Other means of identification**

**Product Code(s)** Preparation PURE  
**Synonyms** No information available

**Recommended use of the chemical and restrictions on use**

**Recommended Use** For educational use only.  
**Uses advised against** Not for Human or Animal Drug Use

**Details of the supplier of the safety data sheet**

<b>Company Address</b>	<b>Manufacturer Address</b>
Ward's Science Division of VWR International, LLC 5100 West Henrietta Rd. PO Box 92912 Rochester, NY 14692-9012	

Boreal Science  
Division of VWR International, Co.  
399 Vansickle Road Catharines, Ontario  
L2S 3T4 Canada

<b>Company Phone Number</b>	Ward's Science: 1-800-962-2660	Boreal Science: 1-800-387-9393
<b>E-mail Address</b>	NAMSDS@vwr.com.	

**Emergency Telephone Number**

**Emergency Telephone Number** CHEMTREC: 800-424-9300  
CANUTEC: 613-996-6666

## 2. HAZARDS IDENTIFICATION

**Classification**

**OSHA Regulatory Status**

This chemical is not considered hazardous by the 2012 OSHA Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200)

**Label elements**

**Emergency Overview**

<b>Appearance</b> No information available	<b>Physical State</b> Liquid	<b>Odor</b> No information available
--	------------------------------	--------------------------------------

**Hazards not otherwise classified (HNOC)**

Not regulated

**Other Information**

### 3. COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS

This material is not considered hazardous by the OSHA Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200).

### 4. FIRST AID MEASURES

#### First Aid Measures

<b>Eye Contact</b>	Rinse thoroughly with plenty of water for at least 15 minutes, lifting lower and upper eyelids. Consult a physician.
<b>Skin Contact</b>	Wash off immediately with soap and plenty of water removing all contaminated clothes and shoes.
<b>Inhalation</b>	Move to fresh air. If not breathing, give artificial respiration.
<b>Ingestion</b>	Never give anything by mouth to an unconscious person. Rinse mouth.

#### Most important symptoms and effects, both acute and delayed

**Most Important Symptoms/Effects** No information available.

#### Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

**Notes to Physician** Treat symptomatically.

### 5. FIRE-FIGHTING MEASURES

#### Suitable Extinguishing Media

Use extinguishing measures that are appropriate to local circumstances and the surrounding environment.

**Unsuitable Extinguishing Media** No information available.

#### Specific Hazards Arising from the Chemical

No information available.

#### Explosion Data

**Sensitivity to Mechanical Impact** None.

**Sensitivity to Static Discharge** None.

#### Protective Equipment and Precautions for Firefighters

As in any fire, wear self-contained breathing apparatus pressure-demand, MSHA/NIOSH (approved or equivalent) and full protective gear.

### 6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

#### Personal precautions, protective equipment and emergency procedures

**Personal protection** Ensure adequate ventilation, especially in confined areas.

#### Environmental Precautions

**Environmental Precautions** See Section 12 for additional Ecological information.

#### Methods and material for containment and cleaning up

**Methods for Containment** Prevent further leakage or spillage if safe to do so.

**Methods for Cleaning Up** Pick up and transfer to properly labeled containers.

## 7. HANDLING AND STORAGE

### Precautions for Safe Handling

**Handling** Handle in accordance with good industrial hygiene and safety practice.

### Conditions for safe storage, including any incompatibilities

**Storage** Keep containers tightly closed in a dry, cool and well-ventilated place.

**Incompatible Products** Strong acids. Strong oxidizing agents.

## 8. EXPOSURE CONTROLS/PERSONAL PROTECTION

### Control parameters

**Exposure Guidelines**  
**Appropriate engineering controls**

**Engineering Measures** Showers  
Eyewash stations  
Ventilation systems.

### Individual protection measures, such as personal protective equipment

**Eye/Face Protection** Avoid contact with eyes. Safety glasses with side-shields.

**Skin and Body Protection** Wear protective gloves/clothing.

**Respiratory Protection** If exposure limits are exceeded or irritation is experienced, NIOSH approved respiratory protection should be worn. Positive-pressure supplied air respirators may be required for high airborne contaminant concentrations. Respiratory protection must be provided in accordance with current local regulations.

**Hygiene Measures** Handle in accordance with good industrial hygiene and safety practice.

## 9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

### Information on basic physical and chemical properties

<b>Physical State</b>	Liquid	<b>Odor</b>	No information available
<b>Appearance</b>	No information available	<b>Odor Threshold</b>	No information available
<b>Color</b>	No information available		

<u>Property</u>	<u>Values</u>	<u>Remarks • Method</u>
pH	No information available	
Melting point/freezing point		
Boiling Point/Range	No information available	
Flash Point (High in °C)	No information available	
Evaporation Rate	No information available	
Flammability (solid, gas)	No information available	
Flammability Limit in Air		
Upper flammability limit:	No information available	
Lower flammability limit:	No information available	
Vapor pressure	No information available	
Vapor Density	No information available	
Specific Gravity	No information available	

<b>Water Solubility</b>	No information available
<b>Solubility in other solvents</b>	No information available
<b>Partition coefficient</b>	No information available
<b>Autoignition Temperature</b>	No information available
<b>Decomposition Temperature</b>	No information available
<b>Kinematic viscosity</b>	No information available
<b>Dynamic viscosity</b>	No information available
<b>Explosive Properties</b>	No information available
<b>Oxidizing Properties</b>	No information available

**Other Information**

<b>Softening Point</b>	No information available
<b>Molecular Weight</b>	No information available
<b>VOC Content</b>	No information available
<b>Density</b>	No information available
<b>Bulk Density</b>	No information available

**10. STABILITY AND REACTIVITY**

**Reactivity**

No data available

**Chemical Stability**

Stable under recommended storage conditions.

**Possibility of Hazardous Reactions**

None under normal processing.

**Conditions to Avoid**

Extremes of temperature and direct sunlight.

**Incompatible Materials**

Strong acids. Strong oxidizing agents.

**Hazardous Decomposition Products**

Carbon oxides.

**11. TOXICOLOGICAL INFORMATION**

**Information on likely routes of exposure**

**Product Information**

<b>Inhalation</b>	There is no data available for this product.
<b>Eye Contact</b>	There is no data available for this product.
<b>Skin Contact</b>	There is no data available for this product.
<b>Ingestion</b>	There is no data available for this product.

**Information on toxicological effects**

**Symptoms** No information available.

**Delayed and immediate effects as well as chronic effects from short and long-term exposure**

**Sensitization** No information available.

Mutagenic Effects	No information available.
Carcinogenicity	The table below indicates whether each agency has listed any ingredient as a carcinogen.
Reproductive Toxicity	No information available.
STOT - single exposure	No information available.
STOT - repeated exposure	No information available.
Aspiration hazard	No information available.

**Numerical measures of toxicity - Product Information**

The following values are calculated based on chapter 3.1 of the GHS document .

**12. ECOLOGICAL INFORMATION**

**Ecotoxicity**

0% of the mixture consists of components(s) of unknown hazards to the aquatic environment

**Persistence and Degradability**

No information available.

**Bioaccumulation/Accumulation**

No information available.

**Other Adverse Effects**

No information available

**13. DISPOSAL CONSIDERATIONS**

**Waste treatment methods**

**Waste Disposal Method**

Dispose of material in accordance with all federal, state, and local regulations.

**Contaminated Packaging**

Do not re-use empty containers.

**14. TRANSPORT INFORMATION**

**DOT**

Not regulated

**IATA**

Not regulated

**15. REGULATORY INFORMATION**

**International Inventories**

TSCA	Complies
DSL/NDSL	Complies
EINECS/ELINCS	Complies
ENCS	Does not Comply
IECSC	Complies
KECL	Complies
PICCS	Complies
AICS	Complies

**Legend:**

TSCA - United States Toxic Substances Control Act Section 8(b) Inventory

DSL/NDSL - Canadian Domestic Substances List/Non-Domestic Substances List

EINECS/ELINCS - European Inventory of Existing Commercial Chemical Substances/EU List of Notified Chemical Substances

**ENCS** - Japan Existing and New Chemical Substances  
**IECSC** - China Inventory of Existing Chemical Substances  
**KECL** - Korean Existing and Evaluated Chemical Substances  
**PICCS** - Philippines Inventory of Chemicals and Chemical Substances  
**AICS** - Australian Inventory of Chemical Substances

**U.S. Federal Regulations**

**SARA 313**

Section 313 of Title III of the Superfund Amendments and Reauthorization Act of 1986 (SARA). This product does not contain any chemicals which are subject to the reporting requirements of the Act and Title 40 of the Code of Federal Regulations, Part 372.

**SARA 311/312 Hazard Categories**

<b>Acute Health Hazard</b>	No
<b>Chronic Health Hazard</b>	No
<b>Fire Hazard</b>	No
<b>Sudden Release of Pressure Hazard</b>	No
<b>Reactive Hazard</b>	No

**Clean Water Act**

This product does not contain any substances regulated as pollutants pursuant to the Clean Water Act (40 CFR 122.21 and 40 CFR 122.42)

**CERCLA**

This material, as supplied, does not contain any substances regulated as hazardous substances under the Comprehensive Environmental Response Compensation and Liability Act (CERCLA) (40 CFR 302) or the Superfund Amendments and Reauthorization Act (SARA) (40 CFR 355). There may be specific reporting requirements at the local, regional, or state level pertaining to releases of this material

**U.S. State Regulations**

**California Proposition 65**

This product does not contain any Proposition 65 chemicals.

**U.S. State Right-to-Know Regulations**

This product does not contain any substances regulated by state right-to-know regulations

**U.S. EPA Label Information**

**EPA Pesticide Registration Number** Not regulated

**16. OTHER INFORMATION**

**Revision Date** 28-Feb-2017

**Revision Note**

No information available

**Disclaimer**

**The above information is believed to be correct but does not purport to be all-inclusive and shall be used only as a guide. The information in this document is based on the present state of our knowledge and is applicable to the product with regard to appropriate safety precautions. It does not represent any guarantee of the properties of the product. VWR International and its Affiliates shall not be held liable for any damage resulting from handling.**

**End of Safety Data Sheet**





221 Rochester Street  
Avon, NY 14414  
(585) 226-6177

# MATERIAL SAFETY DATA SHEET

MSDS No.: IX0237  
Revision Date: April 28, 2011  
Approved by: James A. Bertsch

MSDS No.: IX0237

## Section 1 Chemical Product and Company Information

Product	ISOPROPYL ALCOHOL, 90%
Synonyms	Isopropanol, 90% Solution

CHEMTREC 24 Hour Emergency Phone Number (800) 424-9300

## Section 2 Hazards Identification

### Emergency Overview

#### WARNING! FLAMMABLE!

HARMFUL IF SWALLOWED. CAUSES EYE IRRITATION.

Avoid contact with skin and eyes. Avoid repeated or prolonged inhalation of vapors.

Use with adequate ventilation. Keep away from heat, sparks and open flame. Store in a cool place. Wash thoroughly after handling. Target organs: Central nervous system, liver, kidneys.

0 = Minimal  
1 = Slight  
2 = Moderate  
3 = Serious  
4 = Severe

Health	1
Fire	3
Reactivity	2
Contact	2

HMIS \*

## Section 3 Composition / Information on Ingredients

Chemical Name	CAS #	%	TLV Units
Isopropyl alcohol	67-63-0	90%	TWA: 400 ppm; STEL: 500 ppm (ACGIH 2001)
Water	7732-18-5	10%	None established.

## Section 4 First Aid Measures

**INGESTION:** Call physician or Poison Control Center immediately. Induce vomiting only if advised by appropriate medical personnel. Never give anything by mouth to an unconscious person.

**INHALATION:** Remove to fresh air. If not breathing, give artificial respiration. If breathing is difficult, give oxygen. Get medical attention.

**EYE CONTACT:** Check for and remove contact lenses. Flush thoroughly with water for at least 15 minutes, lifting upper and lower eyelids occasionally. Get immediate medical attention.

**SKIN CONTACT:** Remove contaminated clothing. Flush thoroughly with mild soap and water. If irritation occurs, get medical attention.

## Section 5 Fire Fighting Measures

**General information:** In fire conditions, wear a NIOSH/MSHA-approved self-contained breathing apparatus and full protective gear. During a fire, irritating and highly toxic gases may be generated by thermal decomposition or combustion. Use water spray to keep fire-exposed containers cool. Fires involving a small amount of combustibles may be smothered by dry chemical. In fire conditions, water may evaporate from this solution which may cause hazardous decomposition products to be formed as dust or fume. Vapors are heavier than air and may travel along the ground or may be moved by ventilation and ignited by pilot lights, other flames, sparks, heater, smoking, electric motors or ignition sources at locations distant from material handling point. CAUTION! Flame may not be visible in daylight.

**Extinguishing Media:** Carbon dioxide, dry chemical, water spray, alcohol foam.

**Flash Point:** 17.76°C (64°F) Closed Cup

**Autoignition temperature:** 399°C (750°F) ASTM-E659-78 (pure IPA)

**Explosion Limits:** (pure IPA) Lower: 2% Upper: 12%

0 = Minimal  
1 = Slight  
2 = Moderate  
3 = Serious  
4 = Severe



## Section 6 Accidental Release Measures

Use proper personal protective equipment as indicated in Section 8. Remove all sources of ignition. Provide adequate ventilation. Recover for use if not contaminated. Absorb with inert dry material, sweep or vacuum up and place in a suitable container for proper disposal. Wash spill area with soap and water. Avoid runoff into storm sewers and ditches which lead to waterways.

(2008 EMERGENCY RESPONSE GUIDEBOOK, (PHH50-ERG2008), GUIDE PAGE NO. 129)

## Section 7 Handling & Storage FLAMMABLE STORAGE CODE RED

Read label on container before using. Do not wear contact lenses when working with chemicals. Keep container tightly closed. For laboratory use only. Not for drug, food or household use. Keep out of reach of children. **Handling:** Use with adequate ventilation. Avoid contact with eyes, skin and clothing. Avoid ingestion. Do not inhale vapors, spray or mist. Wash thoroughly after handling. Remove and wash clothing before reuse. **Storage:** Store in a cool, dry, well-ventilated area away from incompatible substances. Keep away from ignition sources.

## Section 8 Exposure Controls / Personal Protection

**Engineering controls:** Facilities storing or utilizing this material should be equipped with an eyewash facility and a safety shower and fire extinguishing material. Personnel should wear safety glasses, goggles, or faceshield, lab coat or apron, appropriate protective gloves. Use adequate ventilation to keep airborne concentrations low.

**Respiratory protection:** Use a chemical fume hood and/or wear a NIOSH/MSHA-approved respirator.

## Section 9 Physical & Chemical Properties

**Physical state:** Liquid. **\*Pure IPA**  
**Appearance:** Clear, colorless.  
**Odor:** Aromatic odor.  
**pH:** N/A  
**Vapor pressure (mm Hg):** 33 mm @ 20°C \*  
**Vapor Density (Air = 1):** 2.1 \*  
**Evaporation rate (Butyl acetate = 1):** 2.3 \*  
**Viscosity:** N/A  
**Boiling point:** 82°C (-130°F) \*  
**Freezing / Melting point:** -90°C (~139°F) \*  
**Decomposition temperature:** N/A  
**Solubility:** Complete.  
**Specific gravity (H<sub>2</sub>O = 1):** 0.786 - 0.79 @ 20°C \*  
**Percent volatile (%):** 100%  
**Molecular formula:** Mixture.  
**Molecular weight:** Mixture.

## Section 10 Stability & Reactivity

**Chemical stability:** Stable  
**Hazardous polymerization:** Will not occur.  
**Conditions to avoid:** Excessive temperatures, heat, sparks, open flame and other sources of ignition.

**Incompatibilities with other materials:** Strong oxidizing materials, caustics, aluminums, metals, nitroform, oleum, chlorinated compounds can react vigorously with this alcohol.

**Hazardous decomposition products:** Oxides of carbon.

## Section 11 Toxicological Information

**Effects of overexposure:** INGESTION: 100 ml can be fatal. Aspiration hazard. EYES: Liquid may cause irritation. SKIN: Prolonged or repeated contact may cause irritation and drying, cracking and defatting of the skin. INHALATION: Exposure to high concentrations (>400 ppm) may cause eyes, nose and throat irritation and excessively high concentrations may cause narcosis (drowsiness, sleepiness). Target organs: Central nervous system, liver, kidneys.

ORL-RAT LD50: 5045 mg/kg (Pure IPA)

IHL-RAT LC50: N/A (Pure IPA)

SKN-RBT LD50: 12800 g/kg (Pure IPA)

## Section 12 Ecological Information

Data not yet available.

## Section 13 Disposal Considerations

These disposal guidelines are intended for the disposal of catalog-size quantities only. Federal regulations may apply to empty container. State and/or local regulations may be different. Dispose of in accordance with all local, state and federal regulations or contract with a licensed chemical disposal agency.

## Section 14 Transport Information

**UN/NA number:** UN1219

**Shipping name:** Isopropanol solution

**Hazard class:** 3

**Packing group:** II

**Exceptions:** Ltd Qty ≤ 1 Lt.

## Section 15 Regulatory Information

Pure IPA: TSCA-listed, EINECS-listed (200-661-7), RCRA code D001

## Section 16 Additional Information

The information contained herein is furnished without warranty of any kind. Employers should use this information only as a supplement to other information gathered by them and must make independent determinations of suitability and completeness of information from all sources to assure proper use of these materials and the safety and health of employees. \* Hazardous Materials Industrial Standards.



221 Rochester Street  
Avon, NY 14414  
(585) 226-6177

# FICHE SIGNALÉTIQUE

# MSDS: IX0237  
Date de révision: 28 avril, 2011  
Vérfié par: James A. Bertsch

MSDS #: IX0237

## Section 1 L'information de produit chimique et de compagnie

Produit	<b>ALCOOL ISOPROPYLIQUE, 90%</b>
Synonymes	Isopropanol, solution de 90%

CHEMTREC 24 Numéros De Téléphone De Secours D'Heure (800) 424-9300

## Section 2 Identification De Risques

Vue d'ensemble de secours

### AVERTISSEMENT! INFLAMMABLE!

NOCIF EN CAS D'INGESTION. CAUSERS UNE IRRITATION DE LES YEUX. Éviter tout contact avec la peau et les yeux. Évitez l'inhalation répétée ou prolongée des vapeurs. Utilisation avec à ventilation proportionnée. Gardez à partir de la chaleur, des étincelles et de la flamme nue. Entposé dans un endroit frais. Lavage complètement après manipulation. Le système nerveux central, le foie et les reins sont des organes de cible.

0 = Minimal	<b>Santé</b>	1
1 = Léger	<b>Inflammabilité</b>	3
2 = Modéré	<b>Réactivité</b>	2
3 = Sérieux	<b>Contact</b>	2
4 = Sévère		

**HMIS \***

## Section 3 Composition / Information Sur Des Ingrédients

Nommé Chimique	# CAS	%	TLV Units
Alcool isopropylique	67-63-0	90%	TWA: 400 ppm; STEL: 500 ppm (ACGIH 2001)
L'eau	7732-18-5	10%	Aucun établi.

## Section 4 Mesures De Premiers Soins

**INGESTION:** Consulter une médecin ou le centre de poison commande immédiatement. Induisez le vomissement seulement s'informé par le personnel médical approprié.

**INHALATION:** Sortir la victime à l'air frais. Si elle ne respire plus il faut lui donner de la respiration artificielle. Si la respiration est difficile, donnez l'oxygène. Assurez-vous que la victime se repose dans un endroit bien aéré. Obtenir immédiatement de l'aide médicale.

**CONTACT OCULAIRE:** Vérifier si la victime porte des verres de contact et dans ce cas lui les enlever. Rincer les yeux immédiatement à l'eau courante pendant au moins 15 minutes en gardant les paupières ouvertes. Obtenir de l'aide médicale.

**CONTACT CUTANE:** Laver doucement et entièrement la peau contaminée à l'eau courante avec un savon doux et non-abrasif.

## Section 5 Mesures De Lutte Contre L'Incendie

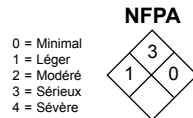
**Informations générales:** En états du feu, portez un appareil respiratoire de NIOSH/MSHA-approved art de l'auto-portrait-contained et une pleine vitesse protectrice. Pendant un feu, l'irritation et les gaz fortement toxiques peuvent être produits par décomposition ou combustion thermique. Employez le jet d'eau pour maintenir les récipients feu-exposés frais. Les feux impliquant un peu de combustibles peuvent être éteints par le produit chimique sec. En états du feu, l'eau peut s'évaporer de cette solution, qui peut causer les produits dangereux de décomposition d'être formée comme poussière ou vapeur. Les vapeurs sont plus lourdes que l'air et peuvent voyager le long de la terre ou peuvent être déplacées par ventilation et être mises à feu par les lampes témoin, tout autre flammes, étincelles, réchauffeur, tabagisme, les moteurs électriques ou les sources d'allumage aux endroits éloignés du point de manipulation matérielle. ATTENTION! La flamme peut ne pas être évidente en jour.

**S'éteindre des médias:** Anhydride carbonique, produit chimique sec, jet d'eau, mousse d'alcool.

**Point d'éclair:** 17.76°C (64°F) Tasse Fermée

**La température d'auto-allumage:** 399°C (750°F) ASTM-E659-78 (IPA pur)

**Limites d'explosion:** (IPA pur) **Seuil minimal:** 2% **Seuil maximal:** 12%



## Section 6 Mesures De Déchargement Accidentel

Utilisez le matériel de protection personnel approprié comme indiqué dans la section 8. Enlevez toutes les sources d'allumage. Fournissez à ventilation proportionnée. Récupérez pour l'usage si non souillé. Absorbent avec le matériel sec inerte, balayez ou nettoyez à l'aspirateur vers le haut et placez dans un récipient approprié pour la disposition appropriée. Secteur de flaque de lavage avec de l'eau le savon et. Évitez l'écoulement dans donnent l'assaut à les égouts et les fossés qui mènent aux voies d'eau.

(GUIDE DE MESURES D'URGENCES (GMU2008), (PHH50-ERG2008), PAGE DE GUIDE # 129)

## Section 7 Manipulation Et Stockage INFLAMMABLE CODE D'ENTREPOSAGE ROUGE

Étiquette lue sur le récipient avant utilisation. Ne portez pas les verres de contact en travaillant avec des produits chimiques. Récipient de subsistance étroitement fermé. Pour l'usage de laboratoire seulement. Pas pour l'usage de drogue, de nourriture ou de ménage. Subsistance hors de portée des enfants.

**Manipulation:** Utilisation avec à ventilation proportionnée. Évitez le contact avec les yeux, la peau et l'habillement. Évitez l'ingestion. N'inhaliez pas les vapeurs, le jet ou la brume. Lavage complètement après manipulation. Habillement de lavage avant réutilisation.

**Stockage:** Magasin dans un secteur frais, sec, bien-aéré loin des substances incompatibles. Subsistance loin des sources d'allumage.

## Section 8 Commandes D'Exposition / Protection Personnelle

**Commandes de technologie:** Des équipements stockant ou utilisant ce matériel devraient être équipés d'un service d'eyewash et une douche et un feu de sûreté s'éteignant le matériel. Personnel devraient porter des verres de sûreté, des lunettes, ou le masque de protection, le manteau de laboratoire ou le tablier, gants protecteurs appropriés, le feu s'éteignant le matériel. Employez à ventilation proportionnée pour maintenir des concentrations aéroportées basses.

**Protection respiratoire:** Utilisez un capot chimique de vapeur et/ou portez un respirateur de NIOSH/MSHA-approved.

## Section 9 Propriétés Physiques Et Chimiques

**État physique:** Liquide.

\* IPA pur

**Point d'ébullition:** 82°C (-130°F) \*

**Apparence:** Sans couleur et claire.

**Point de congélation/de fusion:** -90°C (~139°F) \*

**Odeur:** Odeur aromatique.

**La température de décomposition:** Sans objet.

**pH:** Sans objet.

**Solubilité:** Complete.

**Pression de vapeur (mm Hg):** 33 mm @ 20°C \*

**Gravité spécifique (Eau = 1):** 0,786 - 0,79 @ 20°C \*

**Densité De Vapeur (air = 1):** 2,1 \*

**Pour cent volatils (%):** 100%

**Taux d'évaporation (Butyl acetate = 1):** 2,3 \*

**Formule moléculaire:** Mélange.

**Viscosité:** Sans objet.

**Poids moléculaire:** Mélange.

## Section 10 Stabilité Et Réactivité

**Stabilité chimique:** Stable

**Polymérisation dangereuse:** Ne se produira pas.

**Conditions à éviter:** Les températures excessives, la chaleur, étincelles, flamme nue et d'autres sources d'allumage.

**Incompatibilités avec d'autres matériaux:** Les matériaux de oxydation forts, caustiques, aluminiums, métaux, nitroform, oléum, ont chloré des composés peuvent réagir vigoureusement avec du cet alcool.

**Produits dangereux de décomposition:** Oxydes de carbones.

## Section 11 L'Information Toxicologique

**Effets de surexposition:** INGESTION: 100 ml peuvent être mortels. Risque d'aspiration. YEUX: Le liquide peut causer l'irritation. PEAU: Le contact prolongé ou répété peut causer l'irritation et le séchage, fendant et dégraisant de la peau. INHALATION: Exposition aux concentrations élevées (> 400 ppm) peuvent causer l'irritation de yeux, de nez et de gorge et excessivement - les concentrations élevées peuvent causer la narcose (sommolence, somnolence). Le système nerveux central, foie et les reins sont des organes de cible.

ORL-RAT LD50: 5045 mg/kg (IPA pur)

IHL-RAT LC50: N/A (IPA pur)

SKN-RBT LD50: 12800 g/kg (IPA pur)

## Section 12 L'Information Écologique

Données pas encore disponibles.

## Section 13 Considérations De Disposition

Ces directives de disposition sont prévues pour la disposition des quantités de catalogue-taille seulement. Les règlements fédéraux peuvent appliquer au récipient vide. L'état et/ou les règlements locaux peuvent être différents. Débarassez-vous selon tous les gens du pays, état et règlements fédéraux ou contrat avec une agence chimique autorisée de disposition. Le matériel propre peut être débarassé dans un remblai sanitaire ou être débarassé dans un incinérateur approuvé.

## Section 14 L'Information De Transport

**Nombre d'UN/NA:** UN1219

**Nom d'expédition:** Solution d'isopropanol

**Classe de risque:** 3

**Groupe d'emballage:** II

**Exceptions:** Quantité limitée ≤ 1 Lt.

## Section 15 L'Information De Normalisation

IPA pur: TSCA-listed, EINECS-listed (200-661-7), RCRA code D001

## Section 16 L'Information Additionnelle

Au meilleur de nos connaissances, l'information contenue dans ce document est exacte. Toutefois, ni le fournisseur ci-haut mentionné ni aucune de ses succursales ne peut assumer quelque responsabilité que ce soit en ce qui a trait à l'exactitude ou à l'état complet de l'information contenue dans ce document. La détermination finale de la convenance de tout matériel ou produit est la responsabilité exclusive de l'utilisateur. Tous les matériaux ou produits peuvent présenter certains risques et devraient être utilisés avec prudence. Bien que certains risques soient décrits dans ce document, nous ne pouvons garantir que ce sont les seuls risques qui existent.

# BD BBL™ Sensi-Disc™ Antimicrobial Susceptibility Test Discs

English: pages 1 – 4 Deutsch: Seiten 7 – 9 Español: páginas 11 – 13 8840621  
Frçais: pages 4 – 7 Italiano: pagine 9 – 11 Português: páginas 13 – 16 2011/07

**Pokyny vám poskytne místní zástupce společnosti BD.** / **Kontakt den lokálně BD reprezentant for at få instruktører.** / **Kasutusjuhiste suhtes kontakteeruge oma kohaliku BD esindajaga.** / **Επικοινωνήστε με τον τοπικό αντιπρόσωπο της BD για οδηγίες.** / **A használati utasítást kérje az helyi képviselőtől.** / **Наводимо інструкції та рекомендації від BD і його логотип атостово.** / **Контакт ден локале BD-репрезентант for further information.** / **Абы звыскаць інструкцыі звыжжвання, скантактуй ся з локальным прадстаўніцтвам BD.** / **Инструкције зискате у местном заступцу сполучности BD.** / **Контakta lokal Becton Dickinson-representant för anvisningar.** / **Свяжитесь со с местным представителем на BD за инструкциями.** / **Contactaj reprezentantului dumneavoastră local BD pentru instrucțiuni.** / **Talimatlar için yerel BD temsilcilerinize danışın.** / **Обратите се своим локальным представителю компании BD за услугами.** / **Для получения инструкции свяжитесь с местным представителем компании BD.** / **Өзінқижді жөргілікті BD өкіліне жүгініп нұсауа алыңыз.** / **Контактірай локалное представителіа BD за ұрпте.**

Refer to product label for CE mark availability. / Informace o dostupnosti značky CE najdete na etikétě na výrobku. / Produktet er tilgængeligt, hvis CE-mærkningen findes på etiketten. / Toote saadavuse teadaasaamiseks kontrollige CE-märki olemasolu etiketil. / Pour vérifier le marquage CE du produit, se référer à l'étiquette. / Siehe Produktetikett für die Verfürgbarkeit CE markierter Produkte. / Το προϊόν είναι διαβέβουο εάν η ετικέτα φέρει τη σήμανση CE. / Lásd a termék címkéjén levő CE jel meglétét. / Prodotto disponibile se l'etichetta reca il marchio CE. / E záűmes isekörite ant produktó etikétes. / Se på produktmerkingen om det har CE-merket. / O dostopnosti produkta informuje znak CE na etikyeci. / Verificar a disponibilidade do produto pela marca CE no rótulo. / Pre kontrolu prítomnosti CE značky nahľadnite do etikety výrobku. / "Ver disponibilitad del marcado CE en el etiqueta del producto". / Produkten finns tillgänglig om dess etikett är CE-märkt. / Виж етикетa на продукта за наличиост на знак CE. / Verificați prezența mărciiului CE pe eticheta produsului. / CE isarelytje iligli olarak ürün etiketine basyurun. / Potražite oznaku CE na nalepnici proizvoda. / Проверьте наличие знака CE на этикетке продукта. / Potražite CE oznaku na nalepnici proizvoda. / Samo proizvođi sa CE oznakom dostupni su u Evropi.

**INTENDED USE** – These discs are used for semi-quantitative *in vitro* susceptibility testing by the agar disc diffusion test procedure of common, rapidly growing and certain fastidious bacterial pathogens. These include the *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Vibrio cholerae* and, by modified procedures, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* and other streptococci. NOTE: Special procedures are required for testing pneumococci, enterococci and methicillin/oxacillin-resistant staphylococci, for performing β-lactamase tests and for screening and confirmatory tests for ESBLs; see the "RESULTS" section.

For zone diameter interpretive criteria adopted in France, refer to the instructions in the French language section of this insert.
---

**SUMMARY AND EXPLANATION** – Agar diffusion methods employing dried filter paper discs impregnated with specific concentrations of antimicrobial agents were developed in the 1940s. In order to eliminate or minimize variability in this testing, Bauer et al. developed a standardized procedure in which Mueller Hinton Agar was selected as the test medium.<sup>1,2</sup>

Various regulatory agencies and standards-writing organizations subsequently published standardized reference procedures based on the Bauer-Kirby method. Among the earliest and most widely accepted of these standardized procedures were those published by the U.S. Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup> and the World Health Organization (WHO).<sup>4,5</sup> The procedure was adopted as a consensus standard by the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, formerly NCCLS) and is periodically updated.<sup>6,7</sup> **The latest CLSI documents should be consulted for current recommendations.**

**PRINCIPLES OF THE PROCEDURE** – Discs containing a wide variety of antimicrobial agents are applied to the surface of Mueller Hinton Agar plates (or Haemophilus Test Medium Agar for *H. influenzae*, GC II Agar with IsoVitalex™ Enrichment for *N. gonorrhoeae* or Mueller Hinton Agar with 5% Sheep Blood for *S. pneumoniae*, β-hemolytic and viridans group streptococci) that have been inoculated with pure cultures of clinical isolates. Following incubation, the plates are examined and the zones of inhibition surrounding the discs are measured and compared with established zone size ranges for individual antimicrobial agents in order to determine the agent(s) most suitable for use in antimicrobial therapy.

**REAGENTS** – Sensi-Disc™ brand discs are 6-mm discs prepared by impregnating high quality absorbent paper with accurately determined amounts of antibiotic or other chemotherapeutic agents. Discs are clearly marked on both sides with letters and numbers designating the agent and the drug content. (See chart giving concentrations of reactive ingredients.) The drug content of discs is assayed by the methods established by the FDA or by methods similar or comparable to those published in the United States *Federal Register*.

Sensi-Disc agents are furnished in cartridges containing 50 discs each. The last disc in each cartridge is marked "X" and contains the drug as coded. Cartridges are for use in BBL™ Sensi-Disc™ Dispensers; these include a Single Disc Dispenser, an 8-Place Dispenser for 100 mm-style Petri dishes, 6- and 8-Place Self-Tamping Dispensers for 100 mm-style dishes and a Self-Tamping 12-Place Dispenser for 150 mm-style plates.

**Warnings and Precautions:** For *in vitro* Diagnostic Use.

Follow directions for use; disc performance depends not only on disc potency, but on use of proper inoculum and control cultures, functional pretested plates, proper storage temperature and other factors.

Observe aseptic techniques and established precautions against microbiological hazards throughout all procedures. Sterilize cultures, containers and other contaminated materials after use.

**Storage Instructions:**

- On receipt, store discs at -20 – +8°C. If the laboratory refrigerator is frequently opened and closed, and a suitable temperature is not maintained, place there a supply sufficient only for use within a week. Some discs (e.g., β-lactams) should preferably be kept frozen at -20°C.
- Allow containers to come to room temperature before opening. Return unused discs to the refrigerator when application of discs has been completed. Once opened, discs should be placed in a tightly sealed, desiccated container for storage.
- Use the oldest discs first.

- Discard expired discs. Also, cartridges from which discs have been frequently removed during a week and discs left out overnight in the laboratory should be discarded, or else the discs should be tested for acceptable performance prior to continued use.
- If the discs form incorrect zones with the recommended control organisms, the entire procedure should be checked; faulty zone size may be due to the disc, the inoculation, the preparation or depth (about 4 mm) of medium, or other factors.
- The expiration date applies only to discs in intact containers, stored as directed.

**SPECIMENS** – Specimens should not ordinarily be employed in this test. See Directions, which include preparation of inoculum. If possible, cultures should be derived from specimens obtained from patients prior to the initiation of antimicrobial therapy.

**PROCEDURE**

**Material Provided:** Sensi-Disc™ susceptibility test discs as labeled.

**Materials Required But Not Provided:** Ancillary culture media, reagents, quality control organisms and laboratory equipment required to perform disc diffusion susceptibility testing by the standardized procedure. Prepare a 0.5 McFarland turbidity standard by adding 0.5 mL of 0.048 M BaCl<sub>2</sub> [1.175% (wt/vol) BaCl<sub>2</sub>•2H<sub>2</sub>O] to 99.5 mL of 0.18 M [0.36N] H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [1% (vol/vol)]. Verify by using a spectrophotometer with a 1-cm light path and matched cuvette; absorbance at 625 nm should be 0.08 – 0.13.

**Directions, Including User Controls:**<sup>6</sup>

- Preparation of inoculum with test and control cultures.
  - Perform a Gram stain. Use only pure cultures.
  - Select three to five similar colonies and transfer with inoculation needle or loop into 4 – 5 mL of a suitable broth such as **Trypticase™** Soy Broth (or Mueller Hinton Broth for fastidious organisms).
  - Incubate the broth cultures at 35°C for 2 – 6 h. If necessary, to develop a turbidity equivalent to the 0.5 McFarland turbidity standard (approximately 1 to 2 x 10<sup>8</sup> CFU/mL). Alternatively, make a direct broth or saline suspension of colonies selected from an agar plate incubated overnight (a nonselective medium such as blood agar, or chocolate agar for *H. influenzae* and *N. gonorrhoeae*, should be used). **The direct colony suspension method is preferred for *Staphylococcus* spp., *S. pneumoniae* and other streptococci, *Haemophilus* spp. and *N. gonorrhoeae*.**
  - Dilute, if required, to obtain turbidity equivalent to the 0.5 McFarland turbidity standard. For diluent, use sterile broth or saline. Alternatively, standardize the inoculum photometrically; to facilitate inoculum adjustment of rapidly growing organisms, the **Prompt™** Inoculation System (volumetric inoculum preparation device) may be used.<sup>8</sup> Overnight broth cultures should not be used as inoculum.
- Inoculation.
  - Within 15 min, dip a sterile cotton swab into the properly adjusted inoculum and rotate it firmly several times against the upper inside wall of the tube to express excess fluid.
  - Streak the entire agar surface of a Mueller Hinton Agar (or other appropriate agar) plate three times, turning the plate 60° between streakings to obtain even inoculation.
  - The lid may be left ajar for 3 – 5 min, but no more than 15 min, to allow for any surface moisture to be absorbed before applying the drug-impregnated discs.
- Select appropriate discs (such as recommended in reference 7, Tables 1A and 1B of M100 [M2]).
- Apply the discs by means of a BBL™ dispenser, using aseptic precautions. Deposit discs so that the centers are at least 24 mm apart. It is preferable to deposit penicillin and tetracycline discs so that they are no less than 10 mm from the edge of the Petri dish, and their centers are at least 30 mm apart. Avoid placing such discs adjacent to one another. With *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* and *S. pneumoniae*, use no more than nine discs per 150 mm plate or four discs per 100 mm plate. If discs have been placed on the agar with other than the Self-Tamping Dispensers, press them down with a sterile needle or forceps to make contact with the surface.
- Within 15 min, place the plates agar side up in a 35 ± 2°C incubator (for *Staphylococcus* spp., testing at temperatures above 35°C may not detect methicillin-resistant staphylococci (MRS); for *N. gonorrhoeae*, incubate at 36 ± 1°C [do not exceed 37°C]). *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* and other streptococci should be incubated in an atmosphere enriched with 5% CO<sub>2</sub>.
- Examine the plates after 16 – 18 h of incubation (20 – 24 h for *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* and other streptococci). A full 24 h of incubation is recommended for *Staphylococcus* spp. to detect methicillin/nafcillin/oxacillin/vancomycin-resistant staphylococci and *Enterococcus* spp. for vancomycin resistance. The diameters of the zones of complete inhibition are measured, as determined by gross visual inspection. Zones are measured to the nearest whole millimeter. For further details in measuring zones of inhibition, consult the reference.<sup>6</sup> If only isolated colonies grow, the inoculum is too light and the test should be repeated. Zones around discs containing different drugs are not comparable for the purpose of comparing activity of drugs. See the Zone Diameter Interpretive Chart, which gives expected values from testing common aerobes. Zone measurement may be simplified by using a BBL™ Sensi-Disc™ Zone Interpretation Set.
- Control tests using prescribed cultures should be included each day susceptibility testing is performed or weekly if satisfactory performance can be documented according to the CLSI standard.<sup>6</sup> Typical zone sizes of *E. coli* ATCC™ 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *H. influenzae* ATCC 49247, *H. influenzae* ATCC 49766, *N. gonorrhoeae* ATCC 49226, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *E. coli* ATCC 35218 (β-lactamase-producing strain), *E. faecalis* ATCC 29212 (for quality control testing of gentamicin 120 µg and streptomycin 300 µg discs) and *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (for screening and confirmatory tests for ESBLs) are given in the chart (or footnotes) and indicate the correct performance of the entire procedure. *E. faecalis* ATCC 29212 (or 33186) is also recommended for evaluating new lots of Mueller Hinton Agar for low thymine and thymidine content (see footnote t). *H. influenzae* ATCC 10211 is recommended as a useful additional quality control strain to verify the growth promotion properties of Haemophilus Test Medium Agar.

**RESULTS**<sup>6,7</sup> – NOTE: Recommended interpretive criteria are based on usual dosage regimens and routes of administration in the U.S. Beginning in 2006, CLSI established zone diameter interpretive criteria for *Neisseria meningitidis*, *Burkholderia cepacia* and *Stenotrophomonas maltophilia*. For these ranges, consult CLSI M100-S21<sup>7</sup> or the latest M100 supplement available. In addition, CLSI guideline M45 – *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria* – can be consulted to obtain information for testing a variety of organisms including *Campylobacter*, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., etc.<sup>9</sup> For organisms not found in the accompanying table, or the references mentioned, studies are not yet adequate to develop reproducible definitive standards for interpretation of results. If necessary, a dilution method usually will be the most appropriate testing method, which may require submitting the organism to a reference laboratory. In some instances, CLSI has implemented new zone diameter ranges for interpretive or quality control criteria. When this has occurred, footnote "aa" has been added indicating that the FDA-approved zone diameters provided differ from the current CLSI recommendations.

Compare recorded zone diameters with those in the chart; results with a specific organism may be reported as Resistant, Intermediate or Susceptible. For some organism/antimicrobial agent combinations, the absence or rare occurrence of resistant strains precludes defining any results categories other than "Susceptible." For strains yielding results suggestive of a "non-susceptible" category, organism identification and antimicrobial susceptibility test results should be confirmed. Subsequently, the isolates should be saved and submitted to a reference laboratory that will confirm results using a CLSI reference dilution method.<sup>6</sup>

A rapid β-lactamase test (e.g., using **Cefinase™** discs) may yield clinically relevant information earlier than results of a disc diffusion test with *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae* and *Moraxella catarrhalis*; it is the only reliable test for detecting β-lactamase-producing *Enterococcus* spp. A positive β-lactamase test predicts resistance to penicillin, ampicillin and amoxicillin among *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae* and *M. catarrhalis* and resistance to penicillin, including amino-, carboxy- and ureido-penicillins among staphylococci and enterococci. A negative β-lactamase test does not rule out resistance due to other mechanisms. Do not test members of the *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. and other aerobic gram-negative bacilli because the results may not be predictive of susceptibility to the β-lactams most often used for therapy. Accurate detection of β-lactamase in staphylococci may require induction of the enzyme and incubation of a nitrocefim-based test for up to 1 h. Induction can be easily accomplished by testing the growth from the zone margin surrounding an oxacillin disc test. Care must be exercised to ensure accurate results, including testing of known positive and negative control strains at the time clinical isolates are examined.<sup>6</sup>

**Enterobacteriaceae:** When fecal isolates of *Salmonella* and *Shigella* spp. are tested, only ampicillin, a quinolone and trimethoprim/sulfamethoxazole should be reported routinely. In addition, chloramphenicol and a third generation cephalosporin should be tested and reported for extraintestinal isolates of *Salmonella* spp. For *Salmonella* and *Shigella* spp., aminoglycosides and first and second generation cephalosporins and cephamycins may appear active *in vitro* but are not effective clinically and should not be reported as susceptible.<sup>7</sup>

*Enterobacter*, *Citrobacter*, and *Serratia* may develop resistance during prolonged therapy with third generation cephalosporins. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within 3 to 4 days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.<sup>7</sup>

Extended-spectrum β-lactamases (ESBLs) are enzymes produced by gram-negative bacilli that arise by mutation in genes for common plasmid-mediated β-lactamases. Strains of *Klebsiella* spp. and *E. coli* that produce ESBLs may be clinically resistant to therapy with penicillins, cephalosporins, or aztreonam, despite apparent *in vitro* susceptibility to some of these agents. Some of these strains will show zones of inhibition below the normal susceptible population but above the standard breakpoints for certain extended-spectrum cephalosporins or aztreonam; such strains should be screened for potential ESBL production by using the ESBL screening breakpoints before reporting results for penicillins, extended-spectrum cephalosporins or aztreonam. Other strains may test intermediate or resistant by standard breakpoints to one or more of these agents. In all strains with ESBLs the zone diameters for one or more of the extended-spectrum cephalosporins or aztreonam should increase in the presence of clavulanic acid as determined in phenotypic confirmatory testing. For all confirmed ESBL-producing strains, the test interpretation should be reported as resistant for all penicillins, cephalosporins, and aztreonam. See footnote t for ESBL screening and confirmatory tests. The decision to perform ESBL screening tests on all urine isolates should be made on an institutional basis, considering prevalence, therapy and infection control issues.<sup>7</sup> To screen *Proteus mirabilis* for ESBL production, see M100.<sup>7</sup>

**Non-Enterobacteriaceae:** Non-Enterobacteriaceae other than *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *B. cepacia* and *S. maltophilia* should be tested by the dilution method (see M719). For *B. cepacia* and *S. maltophilia*, consult CLSI M100-S21 for zone diameter interpretative standards and quality control. *P. aeruginosa* may develop resistance during prolonged therapy with all antibiotics. Isolates that are initially susceptible may become resistant within 3 to 4 days after initiation of therapy and testing of repeat isolates may be warranted.<sup>7</sup>

The susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients with cystic fibrosis can be reliably determined by the disc method, but may require extended incubation up to 24 h before reporting as susceptible.<sup>7</sup>

**Staphylococcus spp.:** *Staphylococcus* spp. may develop resistance during prolonged therapy with quinolones. Therefore, isolates that are initially susceptible may become resistant within 3 to 4 days after initiation of therapy. Testing of repeat isolates may be warranted.<sup>7</sup>

Methods for the detection of methicillin-resistant staphylococci include the oxacillin disc test, the cefoxitin disc test and tests for mecA or the protein encoded by mecA, the penicillin-binding protein 2a (PBP 2a, also called PBP 2). In the past, the presence of resistance to other classes of agents was an indication of methicillin (oxacillin) resistance. However, some methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), such as those found in community-associated infections, are not multiply-resistant.<sup>6</sup>

MRSA and methicillin-resistant, coagulase-negative staphylococci should be reported as resistant (or not reported) to all other penicillins, carbapenems, cepheps, and β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, regardless of *in vitro* test results with those agents. This is because most cases of documented methicillin-resistant infections have responded poorly to β-lactam therapy, and convincing clinical data have yet to be presented that document clinical efficacy for β-lactams versus MRS. For oxacillin-susceptible *S. aureus* and coagulase-negative staphylococci, results for parenteral and oral cepheps, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, and carbapenems, if tested, should be reported according to the results generated using routine interpretive criteria. For oxacillin-resistant *S. aureus* and coagulase-negative staphylococci (MRS), other β-lactam agents; i.e., penicillins, β-lactam/β-lactamase inhibitor combinations, cepheps, and carbapenems, may appear active *in vitro*, but are not effective clinically. Results for these drugs should be reported as resistant or should not be reported. This is because most cases of documented MRS infections have responded poorly to β-lactam therapy, or because convincing clinical data have yet to be presented that document clinical efficacy for those agents. Routine testing of urine isolates of *S. saprophyticus* is not advised, because infections respond to concentrations achieved in urine of antimicrobial agents commonly used to treat acute, uncomplicated urinary tract infections (e.g., nitrofurantoin, trimethoprim/sulfamethoxazole or a fluoroquinolone).<sup>6,7</sup> To obtain information on predicting mecA-mediated resistance in *Staphylococcus* spp. using cefoxitin (30 µg), consult CLSI M100-S21.

Similarly, to obtain information on testing *Staphylococcus* spp. for inducible clindamycin resistance consult M100-S21.

**Enterococcus spp.:** Enterococci may be resistant to penicillin and ampicillin because of the production of low-affinity, penicillin-binding proteins (PBPs), or the production of β-lactamase. The disc diffusion test can accurately detect isolates with altered PBPs, but it will not reliably detect β-lactamase producing strains. The latter strains are best detected by using a direct β-lactamase test;<sup>6</sup> e.g., with **Cefinase** nitrocefim discs or chromogenic cephalosporin discs.

For *Enterococcus* spp., cephalosporins, aminoglycosides (except for high level resistance screening), clindamycin and trimethoprim/sulfamethoxazole may appear active *in vitro* but are not effective clinically and isolates should not be reported as susceptible.

**Haemophilus spp.:** Only results of testing with ampicillin, one of the third-generation cephalosporins, chloramphenicol and meropenem should be reported routinely with cerebrospinal fluid isolates of *H. influenzae*. Amoxicillin/clavulanic acid, azithromycin, clarithromycin, cefaclor, cefprozil, loracarbef, cefdinir, cefixime, cefpodoxime, cefuroxime axetil and telithromycin are oral agents that may be used as empiric therapy for respiratory tract infections due to *Haemophilus* spp. The results of susceptibility tests with these antimicrobial agents are often not useful for management of individual patients. However, susceptibility testing of *Haemophilus* spp. with these compounds may be appropriate for surveillance or epidemiologic studies.

**Streptococcus spp. other than *S. pneumoniae*:** Susceptibility testing of penicillins and other β-lactams approved by the U.S. Food and Drug Administration for treatment of *S. pyogenes* or *S. agalactiae* is not necessary for clinical purposes and need not be done routinely, since as with vancomycin, resistant strains have not been recognized. Interpretive criteria are provided for pharmaceutical development, epidemiology or monitoring for emerging resistance. Any strain found to be intermediate or resistant should be referred to a reference laboratory for confirmation.

To obtain information on testing β-hemolytic streptococci for inducible clindamycin resistance consult M100-S21.<sup>7</sup>

**LIMITATIONS OF THE PROCEDURE**

- The test as herein described applies primarily to rapidly growing aerobic pathogens. For fastidious bacteria other than *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* and other streptococci, consult M100 (*N. meningitidis*) or M45.<sup>7,13</sup> Otherwise, test by the dilution method. Testing of anaerobes requires special procedures.<sup>11</sup>
- The classifications of Resistant, Intermediate and Susceptible vary only by one millimeter, which is within normal laboratory error. Some cultures may give a borderline zone that varies from day to day or from laboratory to laboratory; such cultures are relatively uncommon.

- For detecting pneumococcal and enterococcal resistance, strictly adhere to CLSI recommended methods.<sup>6</sup>

4. Antimicrobial agents other than those listed in the Chart may be in current use. Susceptibility tests employing these agents should be interpreted on the basis of presence or absence of a definite zone of inhibition and should be considered as only qualitative until such time as interpretive zones have been established. All zone diameters should be recorded.

5. ESBL confirmatory testing is only valid when the four discs (cefotaxime, cefotaxime/clavulanic acid, ceftazidime, ceftazidime/clavulanic acid) are used simultaneously. Individual usage of these discs is not recommended by CLSI.<sup>6,7</sup>

6. Accurate results are a function of the correct storage and maintenance of quality control organisms. This is especially true for *E. coli* ATCC 35218 and *K. pneumoniae* ATCC 700603, because spontaneous loss of the plasmid encoding the β-lactamase has been documented. Refer to CLSI standard M2 for recommendations on the correct storage and maintenance of quality control organisms.<sup>6</sup>

7. The ability to detect vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) with this product is unknown. Additional testing methods as recommended by the Centers for Disease Control and Prevention (CDC) should be used when performing susceptibility testing on *S. aureus* isolates, particularly methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). These tests include nonautomated MIC methods (e.g., broth microdilution or agar dilution) and a vancomycin agar screen test (Brain Heart Infusion Agar with 6 µg/mL of vancomycin). These methods require a full 24 h of incubation to detect VRSA. For additional information, refer to the CDC web site.<sup>12</sup>

**REFERENCES**

- Bauer, A.W., W.M.M. Kirby, J.C. Sherris, and M. Turck. 1966. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 45:493-496.
- Ryan, K.J., F.D. Schoenkecht, and W.M.M. Kirby. 1970. Disc susceptibility testing. Hospital Practice 5:91-100.
- Federal Register. 1972. Rules and regulations. Antibiotic sensitivity discs. Fed. Regist. 37:20525-20529. Erratum, 38:2756, 1973.
- Ericsson, H.M., and J.C. Sherris. 1971. Antibiotic sensitivity testing. Report of an international collaborative study. Acta Pathol. Microbiol. Scand. Sec. B. Suppl. 217:1-90.
- World Health Organization Expert Committee on Biological Standardization. 1977. Technical report series 610. W.H.O., Geneva.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009. Approved standard M2-A10. Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 10th ed. CLSI, Wayne, Pa.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2011. M100-S21 (M2). Disk Diffusion Supplemental Tables, CLSI, Wayne Pa.
- Baker, C.N., C. Thornsberry, and R.W. Hawkinson. 1983. Inoculum standardization in antimicrobial susceptibility testing: evaluation of overnight agar cultures and the rapid inoculum standardization system. J. Clin. Microbiol. 17:450-457.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2010. Approved guideline M45-A2. Methods for antimicrobial dilution and disk susceptibility testing of infrequently isolated or fastidious bacteria. 2nd ed., CLSI, Wayne, Pa.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2009. Approved standard M7-A8. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. 8th ed. CLSI, Wayne, Pa.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. 2007. Approved standard M11-A7. Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria, 7th ed. CLSI, Wayne, Pa.
- Centers for Disease Control and Prevention. www.cdc.gov/nicod/dhqp/ar\_visavrsa\_labFAQ.html
- Bushy, S.R.M. 1973. Trimethoprim-sulfamethoxazole: *in vitro* microbiological aspects, p. 10-30. *In* M. Finland and E.H. Kass (ed.), Trimethoprim-sulfamethoxazole: microbiological, pharmacological, and clinical considerations. University of Chicago Press, Chicago.

Zone Diameter Interpretive Chart t											
		Zone Diameter Interpretive Standards (mm)	Control Zone Diameter Limits (mm)								
		Resistant	Intermediate <sup>a</sup>	Susceptible <sup>b</sup>	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>H. influenzae</i> ATCC 49247 <sup>c</sup>	<i>H. influenzae</i> ATCC 49766 <sup>c</sup>	<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 49226 <sup>d</sup>	<i>S. pneumoniae</i> ATCC 49619 <sup>e</sup>
Antimicrobial Agent	Code	Disc Potency									
<b>Amdicillin</b> <sup>f</sup> <i>Enterobacteriaceae</i>	AMD-10	10 µg	≤15	—	≥16	23 – 29	—	—	—	—	—
<b>Amikacin</b> <i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> and staphylococci	AN-30	30 µg	≤14	15 – 16	≥17	19 – 26	20 – 26	18 – 26	—	—	—
<b>Amoxicillin</b> <b>Clavulanic Acid</b> <sup>g,h,i</sup>	AmC-30	20/10 µg	≤13	14 – 17	≥18	18 – 24 <sup>g,ii</sup>	28 – 36	—	—	—	—
<i>Enterobacteriaceae</i> <i>Staphylococcus</i> spp. j <i>Haemophilus</i> spp. c,k			≤19	—	≥20	—	—	—	15 –23 <sup>c</sup>	—	—
<b>Ampicillin</b> <sup>h,l</sup> <i>Enterobacteriaceae</i> <sup>ll</sup> and <i>V. cholerae</i> <sup>m</sup> <i>Staphylococci</i> , <sup>ll,ii</sup> <i>Enterococcus</i> spp. n,o,ii	AM-10	10 µg	≤13	14 – 16	≥17	16 – 22	27 – 35	—	—	—	—
<i>Staphylococci</i> , <sup>ll,ii</sup> <i>Enterococcus</i> spp. n,o,ii			≤28	—	≥29	—	—	—	—	—	—
<i>Listeria monocytogenes</i> f <i>Haemophilus</i> spp. c,k,p			≤16	—	≥17	—	—	—	—	—	—
Streptococci (non- <i>S. pneumoniae</i> , β-hemolytic only) e,i,aaa,ccc			≤19	—	≥20	—	—	—	13 – 21 <sup>c</sup>	—	30 – 36 <sup>e</sup>
<b>Ampicillin</b> <b>Sublactam</b> <sup>g,h,i</sup>	SAM-20	10/10 µg	≤11	12 – 14 <sup>ii</sup>	≥15 <sup>ii</sup>	19 – 24 <sup>g,ii</sup>	29 – 37	—	—	—	—
<i>Enterobacteriaceae</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter</i> q and staphylococci j <i>Haemophilus</i> spp. c,k			≤19	—	≥20	—	—	—	14 –22 <sup>c</sup>	—	—
<b>Azithromycin</b> <i>Staphylococcus</i> spp. f <i>Haemophilus</i> spp. c <i>S. pneumoniae</i> and other streptococci e,f,6	AZM-15	15 µg	≤13	14 – 17	≥18	—	21 – 26	—	—	—	—
<i>Staphylococcus</i> spp. f <i>Haemophilus</i> spp. c			—	—	≥12	—	—	—	13 – 21 <sup>c</sup>	—	—
<i>S. pneumoniae</i> and other streptococci e,f,6			≤13	14 – 17	≥18	—	—	—	—	—	19 – 25 <sup>e</sup>
<b>Azlocillin</b> <i>P. aeruginosa</i>	AZ-75	75 µg	≤17	—	≥18	—	—	24 – 30	—	—	—
<b>Aztreonam</b> <i>Enterobacteriaceae</i> , <sup>f</sup> <i>P. aeruginosa</i> & <i>Acinetobacter</i> <i>Haemophilus</i> spp. c	ATM-30	30 µg	≤15	16 – 21	≥22	28 – 36	—	23 – 29	—	—	—
<i>Enterobacteriaceae</i> , <sup>f</sup> <i>P. aeruginosa</i>											

Zone Diameter Interpretive Chart †				Zone Diameter Interpretive Standards (mm)		Control Zone Diameter Limits (mm)						
Antimicrobial Agent	Code	Disc Potency	Resistant	Intermediate <sup>a</sup>	Susceptible <sup>b</sup>	E. coli ATCC 25922	S. aureus ATCC 25923	P. aeruginosa ATCC 27853	H. influenzae ATCC 49247 <sup>c</sup>	H. influenzae ATCC 49766 <sup>c</sup>	N. gonorrhoeae ATCC 49226 <sup>d</sup>	S. pneumoniae ATCC 49619 <sup>e</sup>
<b>Ertapenem</b> <sup>h,i</sup>	ETP-10	10 µg	≤15	16 – 18	≥19	29 – 36	24 – 31	13 – 21	—	—	—	28 – 35
Enterobacteriaceae and Staphylococcus spp.) Haemophilus spp. <sup>c</sup>			≤15	16 – 18	≥19	—	—	—	20 – 28	27 – 33	—	—
<b>Erythromycin</b>	E-15	15 µg	≤13	14 – 22 <sup>ii</sup>	≥23 <sup>ii</sup>	—	22 – 30	—	—	—	—	25 – 30 <sup>e</sup>
Staphylococcus spp. <sup>f</sup> and enterococci <sup>o,y</sup> S. pneumoniae and other streptococci <sup>e,r,s</sup>			≤13	14 – 22 <sup>ii</sup>	≥23 <sup>ii</sup>	—	—	—	—	—	—	—
S. pneumoniae and other streptococci <sup>e,r,s</sup>			≤15	16 – 20	≥21	—	—	—	—	—	—	—
<b>Fosfomicin</b> <sup>z</sup>	FOS-200	200 µg	≤12	13 – 15	≥16	22 – 30 <sup>ii</sup>	25 – 33	—	—	—	—	—
E. coli and E. faecalis only			≤12	13 – 15	≥16	—	—	—	—	—	—	—
<b>Gatifloxacin</b>	GAT-5	5 µg	≤14	15 – 17	≥18	30 – 37	27 – 33	20 – 28 <sup>mm</sup>	—	—	—	—
Enterobacteriaceae <sup>ddd</sup> and Staphylococcus spp. <sup>aa</sup> P. aeruginosa, Acinetobacter spp. and enterococci <sup>z</sup> H. influenzae <sup>e</sup> and H. parainfluenzae <sup>c</sup> N. gonorrhoeae <sup>d</sup> S. pneumoniae and other streptococci (non-S. pneumoniae, β-hemolytic only) <sup>e</sup>			≤14	15 – 17	≥18	—	—	—	33 – 41 <sup>c</sup>	—	—	—
H. influenzae <sup>e</sup> and H. parainfluenzae <sup>c</sup> S. pneumoniae <sup>e</sup>			≤14 <sup>ii</sup>	15 – 17 <sup>ii</sup>	≥18 <sup>ii</sup>	—	—	—	—	—	—	—
N. gonorrhoeae <sup>d</sup>			≤33	34 – 37	≥38	—	—	—	—	—	—	—
S. pneumoniae and other streptococci (non-S. pneumoniae, β-hemolytic only) <sup>e</sup>			≤17 <sup>ii</sup>	18 – 20 <sup>ii</sup>	≥21 <sup>ii</sup>	—	—	—	—	—	—	—
<b>Gemifloxacin</b>	GEM-5	5 µg	≤15	16 – 19	≥20	29 – 36	27 – 33 <sup>ii</sup>	19 – 25 <sup>mm,ii</sup>	—	—	—	—
Enterobacteriaceae <sup>ll,ddd</sup> H. influenzae <sup>e</sup> and H. parainfluenzae <sup>c</sup> S. pneumoniae <sup>e</sup>			≤15	16 – 19	≥20	—	—	—	30 – 37	—	—	—
H. influenzae <sup>e</sup> and H. parainfluenzae <sup>c</sup> S. pneumoniae <sup>e</sup>			—	—	≥18	—	—	—	—	—	—	—
S. pneumoniae <sup>e</sup>			≤19	20 – 22	≥23	—	—	—	—	—	—	—
<b>Gentamicin</b>	GM-120	120 µg	6	7 – 9 <sup>hh</sup>	≥10	—	—	—	—	—	—	—
Testing enterococci for high level resistance <sup>h,o,99</sup>			6	7 – 9 <sup>hh</sup>	≥10	—	—	—	—	—	—	—
Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, Acinetobacter and staphylococci			≤12	13 – 14	≥15	19 – 26	19 – 27	16 – 21	—	—	—	—
<b>Imipenem</b> <sup>h,i</sup>	IPM-10	10 µg	26	32	—	26 – 32	—	20 – 28	—	—	—	—
Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, Acinetobacter and staphylococci Haemophilus spp. <sup>c</sup>			≤13	14 – 15	≥16	—	—	—	21 – 29 <sup>c</sup>	—	—	—
<b>Kanamycin</b>	K-30	30 µg	≤13	14 – 17	≥18	17 – 25	19 – 26	—	—	—	—	—
Enterobacteriaceae and staphylococci			≤13	14 – 17	≥18	—	—	—	—	—	—	—
<b>Levofloxacin</b>	LVX-5	5 µg	29	37	—	29 – 37	25 – 30	19 – 26	—	—	—	—
Enterobacteriaceae <sup>ddd</sup> , P. aeruginosa, Acinetobacter, staphylococci <sup>aa</sup> and enterococci Haemophilus spp. <sup>c</sup>			≤13	14 – 16	≥17	—	—	—	32 – 40 <sup>c</sup>	—	—	—
S. pneumoniae and other streptococci (non-S. pneumoniae, β-hemolytic only) <sup>e</sup>			≤13	14 – 16	≥17	—	—	—	—	—	—	—
<b>Linezolid</b>	LZD-30	30 µg	—	—	≥21	—	25 – 32 <sup>ii</sup>	—	—	—	—	—
Staphylococcus spp. Enterococcus spp. S. pneumoniae and other streptococci <sup>e</sup>			—	—	≥21	—	—	—	—	—	—	—
Enterococcus spp.			≤20	21 – 22	≥23	—	—	—	—	—	—	—
S. pneumoniae and other streptococci <sup>e</sup>			—	—	≥21	—	—	—	—	—	—	—
<b>Lomefloxacin</b>	LOM-10	10 µg	27	33	—	27 – 33	23 – 29	22 – 28	—	—	—	—
Enterobacteriaceae <sup>ddd</sup> , P. aeruginosa, Acinetobacter and staphylococci Haemophilus spp. <sup>c</sup> N. gonorrhoeae <sup>d</sup>			≤18	19 – 21	≥22	—	—	—	33 – 41 <sup>c</sup>	—	—	—
N. gonorrhoeae <sup>d</sup>			≤26	27 – 37	≥38	—	—	—	—	—	—	—
<b>Loracarbef</b> <sup>h,i</sup>	LOR-30	30 µg	23	29	—	23 – 29	23 – 31	—	—	—	—	—
Enterobacteriaceae <sup>u,kk</sup> and staphylococci Haemophilus spp. <sup>ck</sup>			≤14	15 – 17	≥18	—	—	—	—	—	—	—
Haemophilus spp. <sup>ck</sup>			≤15	16 – 18	≥19	—	—	—	—	—	—	—
<b>Meropenem</b> <sup>h,i</sup>	MEM-10	10 µg	28	34	—	28 – 34	29 – 37 <sup>ii</sup>	27 – 33	—	26 – 32 <sup>c</sup>	—	—
Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, Acinetobacter and staphylococci Haemophilus spp. <sup>c</sup>			≤13	14 – 15	≥16	—	—	—	—	—	—	—
Haemophilus spp. <sup>c</sup>			—	—	≥20	—	—	—	—	—	—	—
<b>Mezlocillin</b> <sup>ii</sup>	MZ-75	75 µg	23	29	—	23 – 29	—	19 – 25	—	—	—	—
Enterobacteriaceae and Acinetobacter P. aeruginosa			≤17	18 – 20	≥21	—	—	—	—	—	—	—
P. aeruginosa			≤15	—	≥16	—	—	—	—	—	—	—
<b>Minocycline</b> <sup>ee</sup>	MI-30	30 µg	19	25	—	19 – 25	25 – 30	—	—	—	—	—
Enterobacteriaceae <sup>aa</sup> , P. aeruginosa, Acinetobacter <sup>aa</sup> , staphylococci and enterococci <sup>yy</sup>			≤14	15 – 18	≥19	—	—	—	—	—	—	—
<b>Moxalactam</b>	MOX-30	30 µg	28	35	—	28 – 35	18 – 24	17 – 25	—	—	—	—
Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, Acinetobacter and staphylococci			≤14	15 – 22	≥23	—	—	—	—	—	—	—
<b>Moxifloxacin</b>	MXF-5	5 µg	28	35	—	28 – 35	28 – 35	— <sup>aa</sup>	—	—	—	—
Enterobacteriaceae <sup>ddd</sup> and Staphylococcus spp. <sup>aa</sup> H. influenzae <sup>e</sup> and H. parainfluenzae <sup>c</sup> S. pneumoniae <sup>e</sup>			≤15	16 – 18	≥19	—	—	—	—	—	—	—
H. influenzae <sup>e</sup> and H. parainfluenzae <sup>c</sup> S. pneumoniae <sup>e</sup>			≤14	15 – 17	≥18	—	—	—	—	—	—	—
<b>Nafcillin</b>	NF-1	1 µg	—	16	—	—	16 – 22	—	—	—	—	—
Staphylococcus aureus <sup>l,nn</sup>			≤10	11 – 12	≥13	—	—	—	—	—	—	—
<b>Nalidixic Acid</b>	NA-30	30 µg	22	28	—	22 – 28	—	—	—	—	—	—
Enterobacteriaceae <sup>z</sup>			≤13	14 – 18	≥19	—	—	—	—	—	—	—
<b>Neomycin</b> <sup>f</sup>	N-30	30 µg	17	23	—	17 – 23	18 – 26	—	—	—	—	—
Streptococci (non-S. pneumoniae, β-hemolytic only) <sup>e,r,rr,aaa,ccc</sup>			≤12	13 – 16	≥17	—	—	—	—	—	—	—
<b>Netilmicin</b>	NET-30	30 µg	22	30	—	22 – 30	22 – 31	17 – 23	—	—	—	—
Enterobacteriaceae, P. aeruginosa, Acinetobacter and staphylococci			≤12	13 – 14	≥15	—	—	—	—	—	—	—
<b>Nitrofurantoin</b>	FIM-300	300 µg	20	25	—	20 – 25	18 – 22	—	—	—	—	—
Enterobacteriaceae, staphylococci and enterococci			≤14	15 – 16	≥17	—	—	—	—	—	—	—
<b>Norfloxacin</b> <sup>ii</sup>	NOR-10	10 µg	28	35	—	28 – 35	17 – 28	22 – 29	—	—	—	—
Enterobacteriaceae <sup>ddd</sup> , P. aeruginosa, Acinetobacter, staphylococci and enterococci			≤12	13 – 16	≥17	—	—	—	—	—	—	—
<b>Novobiocin</b> <sup>f</sup>	NB-30	30 µg	—	22	—	—	22 – 31	—	—	—	—	—
(Mueller Hinton agar with sheep blood for veterinary use)			≤14	15 – 16	≥17	—	—	—	—	—	—	—
<b>Ofloxacin</b>	OFX-5	5 µg	29	33	—	29 – 33	24 – 28	17 – 21	—	—	—	—
Enterobacteriaceae <sup>ddd</sup> , P. aeruginosa, Acinetobacter and staphylococci <sup>aa</sup> Haemophilus spp. <sup>c</sup> N. gonorrhoeae <sup>d</sup> S. pneumoniae <sup>e</sup> and other streptococci (non-S. pneumoniae, β-hemolytic only) <sup>e</sup>			≤12	13 – 15	≥16	—	—	—	—	—	—	—
Haemophilus spp. <sup>c</sup>			—	—	≥16	—	—	—	—	—	—	—
N. gonorrhoeae <sup>d</sup>			≤24	25 – 30 <sup>w</sup>	≥31	—	—	—	—	—	—	—
S. pneumoniae <sup>e</sup> and other streptococci (non-S. pneumoniae, β-hemolytic only) <sup>e</sup>			≤12	13 – 15	≥16	—	—	—	—	—	—	—
<b>Oxacillin</b>	OX-1	1 µg	—	18	—	—	18 – 24	—	—	—	—	—
Staphylococcus aureus <sup>l,nn,oo</sup> Staphylococci, coagulase-negative <sup>l,nn</sup> S. pneumoniae (for penicillin G susceptibility) <sup>e,h</sup>			≤10	11 – 12	≥13	—	—	—	—	—	—	—
Staphylococcus aureus <sup>l,nn,oo</sup>			≤17	—	≥18	—	—	—	—	—	—	—
Staphylococci, coagulase-negative <sup>l,nn</sup> S. pneumoniae (for penicillin G susceptibility) <sup>e,h</sup>			—	—	≥20	—	—	—	—	—	—	—
<b>Oxolinic Acid</b> <sup>f</sup>	OA-2	2 µg	≤10	—	≥11	20 – 24	10 – 13	—	—	—	—	≤12 <sup>e,bbb</sup>
P-10			—	—	≥11	—	26 – 37	—	—	—	—	—
<b>Penicillin</b> <sup>h</sup>	P-10	10 U	≤28	—	≥29	—	—	—	—	—	—	—
Staphylococcus spp. <sup>l,pp</sup> Enterococcus spp. <sup>h,o</sup> L. monocytogenes <sup>f</sup> N. gonorrhoeae <sup>d,qq,ii</sup> Streptococci (non-S. pneumoniae, β-hemolytic only) <sup>e,r,rr,aaa,ccc</sup>			≤28	—	≥29	—	—	—	—	—	—	—
Staphylococcus spp. <sup>l,pp</sup>			≤14	—	≥15	—	—	—	—	—	—	—
Enterococcus spp. <sup>h,o</sup>			≤19	20 – 27	≥28	—	—	—	—	—	—	—
L. monocytogenes <sup>f</sup>			≤26	27 – 46 <sup>w</sup>	≥47	—	—	—	—	—	—	—
N. gonorrhoeae <sup>d,qq,ii</sup>			—	—	≥24 <sup>ii</sup>	—	—	—	—	—	—	—
Streptococci (non-S. pneumoniae, β-hemolytic only) <sup>e,r,rr,aaa,ccc</sup>			—	—	≥24 <sup>ii</sup>	—	—	—	—	—	—	—
<b>Piperacillin</b>	PIP-100	100 µg	24	309	—	24 – 309	—	25 – 33	—	—	—	—
Enterobacteriaceae and Acinetobacter P. aeruginosa			≤17	18 – 20	≥21	—	—	—	—	—	—	—
P. aeruginosa			≤17	—	≥18	—	—	—	—	—	—	—
<b>Piperacillin/Tazobactam</b> <sup>g</sup>	TZP-110	100/10 µg	24	309	—	24 – 309	27 – 36	25 – 33 <sup>ii</sup>	—	—	—	—
Enterobacteriaceae and Acinetobacter <sup>ii</sup> Staphylococcus spp. <sup>l,ii</sup> and P. aeruginosa <sup>ii</sup>			≤17	18 – 20	≥21	—	—	—	—	—	—	—
Staphylococcus spp. <sup>l,ii</sup> and P. aeruginosa <sup>ii</sup>			≤17	—	≥18	—	—	—	—	—	—	—
<b>Polymyxin B</b> <sup>aa,dd</sup>	PB-300	300 U	≤8	9 – 11	≥12	12 – 16	—	—	—	—	—	—
S. pneumoniae <sup>e</sup> and other streptococci (non-S. pneumoniae, β-hemolytic only) <sup>e</sup>			≤8	9 – 11	≥12	—	—	—	—	—	—	—
<b>Quinupristin/Dalfopristin</b>	SYN-15	4.5/10.5 µg	—	21	—	—	21 – 28 <sup>ii</sup>	—	—	—	—	—
Staphylococcus spp. Enterococcus faecium and S. pyogenes <sup>e</sup> only			—	21	—	—	—	—	—	—	—	—
Staphylococcus spp. Enterococcus faecium and S. pyogenes <sup>e</sup> only			—	—	≥15	—	—	—	—	—	—	—
<b>Rifampin</b>	RA-5	5 µg	≤16	17 – 19	≥20	8 – 10	26 – 34	—	—	—	—	—
Staphylococcus spp. and Enterococcus spp. <sup>yy</sup> Haemophilus spp. <sup>c</sup> S. pneumoniae <sup>e</sup>			≤16	17 – 19	≥20	—	—	—	22 – 30 <sup>c</sup>	—	—	—
Staphylococcus spp. and Enterococcus spp. <sup>yy</sup>			≤16	17 – 19	≥20	—	—	—	—	—	—	—

Les agents **Sensi-Disc** sont fournis en cartouches de 50 disques chacune. Un « X » sur le dernier disque de chaque cartouche indique que celui-ci contient le médicament codé. Les cartouches doivent être utilisées dans les distributeurs **Sensi-Disc BBL**. Il existe plusieurs modèles de distributeurs : un distributeur de disque unique, un distributeur de 8 disques pour les boîtes de Pétri 100 mm, des distributeurs auto-appliqueurs de 6 et 8 disques pour les boîtes 100 mm, un distributeur auto-appliqueur de 12 disques pour les boîtes 150 mm.

**Avertissements et précautions :** Pour diagnostic *in vitro*.

Suivre le mode d'emploi ; les performances des disques dépendent non seulement de l'activité des bactéries, mais également de l'utilisation de cultures de contrôle et d'échantillons adéquats, de boîtes de Pétri fonctionnelles pré-testées, d'une température de stockage adéquate et d'autres facteurs.

Respecter les techniques d'asepsie et prendre les précautions en vigueur contre les dangers microbiologiques. Après usage, stériliser les cultures, les récipients et tout le matériel contaminé.

**Instructions pour la conservation :**

- Dès réception, conserver les disques entre -20 et +8 °C. Si le réfrigérateur du laboratoire est fréquemment ouvert et que la température préconisée n'est **pas** assurée, n'y placer que la quantité de disques suffisante pour une semaine. Certains disques (p. ex. β-lactamines) doivent être conservés de préférence au congélateur, à -20 °C.
- Laisser les cartouches se réchauffer jusqu'à atteindre la température ambiante avant de les ouvrir. Remettre les disques inutilisés au réfrigérateur une fois la pose des disques terminée. Une fois ouverts, les disques doivent être conservés dans un récipient entièrement étanche et sec.
- Utiliser les disques les moins récents en premier.
- Jeter les disques dont la date de péremption est dépassée. Jeter également les cartouches dont on a fréquemment prélevé les disques durant la semaine. Jeter tout disque laissé à température ambiante pendant toute une nuit, ou en vérifier le niveau acceptable de performance avant de continuer à l'utiliser.
- Si les zones d'inhibition formées par les disques avec les microorganismes de contrôle conseillés ne sont pas conformes, la procédure doit être vérifiée dans sa totalité ; cette erreur peut être due au disque, à l'ensemencement, à la préparation ou à la profondeur (environ 4 mm) du milieu, ou encore à d'autres facteurs.

La date de péremption s'applique uniquement aux disques contenus dans des cartouches intactes conservées conformément aux instructions.

**ÉCHANTILLONS** – Normalement, ce test ne doit pas être appliqué directement à des échantillons. Voir la rubrique Instructions pour la préparation de l'inoculum. Dans la mesure du possible, les cultures doivent être préparées à partir d'échantillons prélevés avant le début de tout traitement antibiotique.

**METHODE**

**Matériel fourni :** Disques **Sensi-Disc** pour antibiogrammes, comme indiqué sur l'étiquette.

**Matériaux requis mais non fournis :** Milieux de culture auxiliaires, réactifs, microorganismes de contrôle de qualité et matériel de laboratoire nécessaires pour réaliser des antibiogrammes par la méthode de diffusion sur disque en gelose selon la procédure standardisée. Préparer un standard de turbidité McFarland 0,5 en ajoutant 0,5 mL de BaCl<sub>2</sub> 0,048 M [1,175 % (poids/vol.) BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O] à 99,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [1 % (vol./vol.)], 0,18 M [0,36N]. Vérifier à l'aide d'un spectrophotomètre de 1 cm de raie spectrale et de la cuvette correspondante ; l'absorption à 625 nm doit être comprise entre 0,08 et 0,13.

**Instructions, y compris les contrôles réalisés par l'utilisateur**<sup>6</sup>

- Préparation de l'inoculum avec les cultures de contrôle et les cultures de l'échantillon à analyser.
  - Faire une coloration de Gram. Utiliser uniquement des cultures pures.
  - Sélectionner de trois à cinq colonies semblables et les transférer avec un ensemenceur (fil droit ou anse) dans 4 – 5 mL de bouillon adéquat, comme du bouillon de **Trypticase** soja (ou de Mueller Hinton pour les microorganismes exigeants).
  - Incuber les cultures en bouillon à 35 °C pendant 2 à 6 h si nécessaire, jusqu'à obtenir une turbidité équivalente à un standard de turbidité McFarland 0,5 (environ 1 à 2 × 10<sup>8</sup> UFC/mL). Il est également possible de préparer directement une suspension à base de bouillon ou de sérum physiologique des colonies prélevées sur une gelose en boîte de Pétri après une nuit d'incubation (utiliser un milieu non sélectif comme une geléose au sang, ou une geléose au chocolat pour *H. influenzae* et *N. gonorrhoeae*). La méthode de préparation d'une suspension directe de colonies est préférable pour les espèces de *Staphylococcus*, *S. pneumoniae* et les autres streptocoques, les espèces d'*Haemophilus* et *N. gonorrhoeae*.
  - Diluer, si nécessaire, pour obtenir une turbidité équivalente à un standard de turbidité McFarland 0,5. Comme diluant, utiliser du bouillon ou du sérum physiologique stérile. On peut également standardiser l'inoculum par photométrie ; pour faciliter cette opération avec les microorganismes à croissance rapide, il est possible d'utiliser le **Prompt** Inoculation System (système d'ensemencement **Prompt** ; système de préparation volumétrique de l'inoculum).<sup>6</sup>

Les cultures en bouillon incubées pendant la nuit ne doivent pas être utilisées comme source d'inoculum.

- Ensemencement.
  - Dans les 15 min qui suivent la préparation, tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum correctement dilué et le faire tourner plusieurs fois en le pressant fermement contre la paroi interne du haut du tube pour en extraire l'excès de bouillon.
  - Inoculer trois fois toute la surface d'une geléose Mueller Hinton (ou d'une autre geléose adéquate) en boîte de Pétri, en tournant chaque fois la boîte de 60° de façon à assurer un ensemencement uniforme.
  - Le couvercle de la boîte peut être laissé ouvert pendant 3 – 5 min, sans dépasser 15 min, pour que toute humidité présente en surface soit résorbée avant la pose des disques imprégnés d'agents antibiotiques.
- Sélectionner les disques appropriés (comme recommandé dans la référence 7, tableaux 1A et 1B de M100 [M2]).
- Déposer les disques avec un distributeur **BBL** en respectant les précautions d'asepsie habituelles. Placer les disques de telle sorte que leurs centres soient distants d'au moins 24 mm. Il est préférable de déposer les disques de pénicilline et de céphalosporine à une distance d'au moins 10 mm du bord de la boîte de Pétri et de telle sorte que leurs centres soient distants d'au moins 30 mm. Éviter de disposer ces disques l'un à côté de l'autre. Avec les espèces *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* et *S. pneumoniae*, ne pas utiliser plus de neuf disques par boîte de 150 mm et quatre disques par boîte de 100 mm. Si les disques sont déposés sur la geléose sans utiliser un distributeur auto-appliqueur, appuyer sur une aiguille ou une pince stérile pour assurer le contact avec la surface de la geléose.
- Dans les 15 min qui suivent, placer les boîtes de Pétri avec le côté gélosé tourné vers le haut dans un incubateur à 35 ± 2 °C (pour les espèces de *Staphylococcus*, des tests à des températures supérieures à 35 °C peuvent ne pas permettre de détecter les staphylocoques résistants à la méticilline (MRS) ; pour *N. gonorrhoeae*, incuber à 36 ± 1 °C [ne pas dépasser 37 °C]). Les espèces d'*Haemophilus*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* et les autres streptocoques doivent être incubés dans une atmosphère enrichie avec 5 % de CO<sub>2</sub>.
- Examiner les boîtes de Pétri après 16 à 18 h d'incubation (20 à 24 h pour *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* et les autres streptocoques). Une incubation de 24 h complètes est recommandée pour les espèces de *Staphylococcus* afin de mettre en évidence les staphylocoques résistants à la méticilline/naficilline/oxacilline/vancomycine et pour les espèces d'*Enterococcus* afin de mettre en évidence les entérocoques résistants à la vancomycine. Les diamètres des zones d'inhibition totale sont mesurés sur la base d'une inspection visuelle. Les mesures sont arrondies au millimètre le plus proche. Pour plus d'informations sur la mesure des zones d'inhibition, se reporter à la référence.<sup>6</sup> Si l'on observe uniquement la croissance de colonies isolées, l'inoculum n'est pas assez dense et le test doit être répété. Les zones situées autour des disques contenant différents agents antimicrobiens ne doivent pas être utilisés à des fins de comparaison de l'activité de ces agents. Consulter le tableau d'interprétation du diamètre des zones pour obtenir les valeurs attendues pour les aérobies courants. La mesure des zones peut être simplifiée grâce à l'utilisation du calibre d'interprétation de zones **Sensi-Disc BBL**.
- Des tests de contrôle utilisant les cultures prescrites doivent être inclus chaque jour où un antibiogramme est réalisé, ou une fois pas semaine si les performances sont satisfaisantes, conformément à la norme CLSI.<sup>6</sup> Les tailles typiques des zones pour *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *H. influenzae* ATCC 49247, *H. influenzae* ATCC 49766, *N. gonorrhoeae* ATCC 49226, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *E. coli* ATCC 35218 (souche productrice de β-lactamase), *E. faecalis* ATCC 29212 (pour des tests de contrôle de qualité des disques de gentamycine 120 µg et streptomycine 300 µg) et *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (pour les tests de dépistage et de confirmation des ESBL) sont données dans le tableau (ou les notes en bas de page) ; lorsque ces valeurs sont observées, elles témoignent d'une performance satisfaisante de l'ensemble de la procédure. En outre, la souche *E. faecalis* ATCC 29212 (ou 33186) est recommandée pour déterminer si les lots neufs de geléose Mueller Hinton ont des teneurs suffisamment faibles en thymine et thymidine (voir note ti en bas de page). La souche *H. influenzae* ATCC 10211 est recommandée comme contrôle de qualité supplémentaire pour vérifier les propriétés de facteur de croissance de la geléose pour Test d'identification d'*Haemophilus*.<sup>7</sup>

**RESULTATS<sup>6</sup>** – **REMARQUE** : Les critères d'interprétation recommandés sont basés sur les schémas posologiques et les voies d'administration habituelles aux États-Unis.

A partir de 2006, le CLSI a établi des plages d'interprétation des diamètres de zone pour *Neisseria meningitidis*, *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*. Pour prendre connaissance de ces plages, consulter le document M100-S21<sup>7</sup> du CLSI ou le plus récent supplément M100 disponible. En outre, on peut consulter la directive M45 du CLSI – *Methods For Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria* – pour obtenir des informations relatives aux tests d'une variété d'organismes dont *Campylobacter*, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., etc.<sup>9</sup> Pour les organismes non mentionnés dans le tableau joint, ou dans les références citées, les études sont insuffisantes pour le moment et ne permettent pas d'établir des normes définitives reproductibles pour l'interprétation des résultats. Si elle est nécessaire, une méthode de dilution s'avérera en général la méthode de test la mieux appropriée, ce qui peut nécessiter d'envoyer le microorganisme à un laboratoire de référence.

Dans certains cas, le CLSI a mis en œuvre de nouvelles plages de diamètres de zone pour servir de critères d'interprétation ou de contrôle de qualité. Dans de tels cas, une note « a » de page a été ajoutée ; elle indique que les diamètres de zone approuvés par FDA donnés diffèrent des recommandations actuelles du CLSI.

Comparer les diamètres des zones observés à ceux donnés dans le tableau ; pour un microorganisme donné, trois classifications sont possibles : Résistant, Intermédiaire et Sensible. Pour certains combinaisons d'agent antimicrobien et de microorganisme, l'absence de souches résistantes ou leur rare occurrence empêche de définir des classes autres que « sensible ». Pour les souches donnant des résultats suggérant une classe « non sensible », vérifier les résultats des tests d'identification du microorganisme et de sensibilité aux antimicrobiens. En cas de confirmation, l'isolat doit être préparé et envoyé à un laboratoire de référence qui confirmera les résultats en utilisant une méthode de dilution de référence CLSI.<sup>6</sup>

Un test rapide de la β-lactamase (p. ex. en utilisant des disques **Cefinase**) peut fournir des résultats cliniquement importants avant que les résultats de l'antibiogramme par diffusion sur disque en geléose ne soient obtenus pour les espèces d'*Haemophilus*, *N. gonorrhoeae* et *Moraxella catarrhalis* ; c'est le seul test fiable pour la détection des entérocoques producteurs de β-lactamase. Un résultat positif pour les β-lactamases prédit une résistance à la pénicilline, l'ampicilline et l'amoxicilline chez les espèces d'*Haemophilus*, *N. gonorrhoeae* et *M. catarrhalis*, et une résistance à la pénicilline, y compris les amino-, carboxy- et uréido-pénicillines, chez les staphylocoques et les entérocoques. Un résultat négatif pour la β-lactamase n'élimine pas la possibilité d'une résistance due à d'autres mécanismes. Ne pas tester les espèces des genres *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, ni les autres bacilles aérobies à Gram négatif, car les résultats peuvent ne pas prédire leur sensibilité aux β-lactamines les plus souvent utilisés en traitement. Une mise en évidence exacte des β-lactamases chez les staphylocoques peut nécessiter l'induction de leur enzyme et l'incubation jusqu'à 1 h d'un test basé sur la nitrocéfine. L'induction peut être facilement accomplie en testant la croissance dans la zone marginale entourant le disque d'oxacilline. Procéder avec soin pour garantir l'exactitude des résultats ; ainsi, des souches de contrôle positives et négatives connues doivent être testées en même temps que les isolats cliniques.<sup>6</sup>

**Enterobacteriaceae** : Pour les isolats fécaux d'espèces de *Salmonella* et *Shigella*, seuls l'ampicilline, une quinolone et le triméthopime/sulfaméthoxazole doivent être rapportés en routine. En outre, il faut tester le chloramphénicol et une céphalosporine de troisième génération pour les isolats extraintestinaux d'espèces de *Salmonella*. Pour les espèces de *Salmonella* et *Shigella*, des aminoglycosides et des céphalosporines de première et deuxième générations et des céphamycines peuvent s'avérer actifs *in vitro*, mais ils n'ont aucun effet clinique et les isolats ne doivent donc pas être rapportés comme sensibles.<sup>7</sup>

*Enterobacter*, *Citrobacter*, et *Serratia* peuvent développer une résistance au cours d'un traitement prolongé avec des céphalosporines de troisième génération. C'est pourquoi les isolats qui sont initialement sensibles peuvent devenir résistants au bout de 3 à 4 jours de traitement. Répéter les tests sur des isolats peut s'avérer judicieux.<sup>7</sup>

Les β-lactamases à spectre élargi (ESBL) sont des enzymes produits par les bacilles à Gram négatif, qui proviennent de la mutation des gènes contrôlant les β-lactamases communes à médiation plasmidique. Des souches d'espèces de *Klebsiella* et d'*E. coli* productrices d'ESBL peuvent s'avérer cliniquement résistantes au traitement par les pénicillines, les céphalosporines ou l'aztréonam malgré leur sensibilité apparente *in vitro* à certains de ces agents. Certaines de ces souches présenteront une zone d'inhibition plus réduite que celle de la population normale sensible, mais plus étendue que les valeurs seuils standard de certaines céphalosporines à spectre étendu ou de l'aztréonam ; la mise en évidence de la production d'ESBL par de telles souches peut être réalisée au moyen de seuils de dépistage appropriés avant de rapporter les résultats pour les pénicillines, les céphalosporines à spectre élargi ou l'aztréonam. Selon les valeurs seuils standard, d'autres souches peuvent apparaître intermédiaires ou résistantes à un ou plusieurs de ces agents. Pour toutes les souches à ESBL, le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques contenant certaines céphalosporines à spectre élargi ou l'aztréonam devrait augmenter en présence d'acide clavulanique comme le montre le test de confirmation phénotypique. Les souches productrices d'ESBL devraient donner des résultats de test interprétés comme résistants pour toutes les pénicillines, céphalosporines et l'aztréonam. Voir la note en bas de page t pour les tests de dépistage et de confirmation des ESBL. La décision d'effectuer des tests de dépistage d'ESBL sur tous les isolats d'urine doit être prise au niveau de l'établissement, en considérant la prévalence, le traitement et la prévention de l'infection.<sup>7</sup> Pour dépister *Proteus mirabilis* producteur d'ESBL, se reporter au document M100.<sup>7</sup>

**Non Enterobacteriaceae** : Les non *Enterobacteriaceae* autres que *P. aeruginosa*, les espèces d'*Acinetobacter*, *B. cepacia* et *S. maltophilia* doivent être testées par la méthode de la dilution (voir le document M7<sup>10</sup>). Pour *B. cepacia* et *S. maltophilia*, consulter le document M100-S21 du CLSI pour prendre connaissance des normes d'interprétation des diamètres de zone et le contrôle de qualité.

*P. aeruginosa* peut devenir résistant à la suite d'un traitement prolongé avec tous les antibiotiques. Les isolats initialement sensibles peuvent devenir résistants au bout de 3 à 4 jours de traitement et il peut s'avérer judicieux de répéter les tests sur plusieurs isolats.<sup>7</sup>

La sensibilité des *Pseudomonas aeruginosa* isolés à partir d'échantillons prélevés sur des patients souffrant de mucoviscidose peut être évaluée avec fiabilité par la méthode des disques, mais cette méthode peut exiger une durée d'incubation allant jusqu'à 24 h avant de pouvoir rapporter un isolat comme sensible.<sup>7</sup>

**Staphylococcus spp.** : Les espèces de *Staphylococcus* peuvent développer une résistance lors d'une antibiothérapie prolongée avec des quinolones. C'est pourquoi les isolats qui sont initialement sensibles peuvent devenir résistants au bout de 3 à 4 jours de traitement. Répéter les tests sur des isolats peut s'avérer judicieux.<sup>7</sup>

Méthodes de détection des staphylocoques résistants à la méticilline comprennent le test par disque d'oxacilline, le test sur disque à la céfoxitine et les tests de détection du gène *mecA* ou de la protéine codée par *mecA*, la protéine de liaison à la pénicilline 2a (PBP 2a, aussi appelée PBP 2'). Par le passé, la présence d'une résistance à d'autres classes d'agents antimicrobiens était signe de résistance à la méticilline (oxacilline). Toutefois, certains *S. aureus* résistants à la méticilline (MRSA), tels ceux rencontrés dans les infections communautaires, ne sont pas des résistants multiples.<sup>6</sup>

MRSA et les autres staphylocoques résistants à la méticilline et coagulase négatifs doivent être rendus comme résistants (ou non rapportés) à toutes les autres pénicillines et tout carbapénème, céphème et association β-lactamine/inhibiteur de β-lactamase, quels que soient les résultats des tests *in vitro* avec ces agents. Il faut les désigner ainsi parce que la plupart des cas confirmés d'infections résistantes à la méticilline se sont avérés peu efficaces à un traitement par une β-lactamine et qu'il n'existe pour le moment aucune donnée clinique convaincante démontrant l'efficacité clinique des β-lactamines à l'égard des MRS. Pour *S. aureus* sensible à l'oxacilline et les staphylocoques à coagulase négative, les résultats pour les céphèmes parentéraux et oraux, les associations β-lactamine/inhibiteur de β-lactamase et les carbapénèmes, s'ils sont testés, doivent être rendus conformément aux résultats obtenus en appliquant des critères d'interprétation de routine. Pour *S. aureus* résistant à l'oxacilline et les staphylocoques à coagulase négative (MRS), les autres β-lactamines, c'est-à-dire les pénicillines, les associations β-lactamine/inhibiteur de β-lactamase, les céphèmes et les carbapénèmes peuvent apparaître actifs *in vitro* mais ils sont cliniquement inefficaces. Les résultats pour ces agents antimicrobiens doivent être rendus comme résistants ou ne doivent pas être rapportés parce que la plupart des cas confirmés d'infection à MRS ont mal répondu au traitement par les β-lactamines ou parce que les données cliniques attestant l'efficacité clinique contre ces agents pathogènes sont insuffisantes. Il n'est pas recommandé d'effectuer des tests de routine de *S. saprophyticus* sur des isolats urinaires parce que les infections sont sensibles aux concentrations urinaires d'agents antimicrobiens couramment utilisés pour traiter les infections urinaires aiguës non compliquées (p. ex. nitrofurantoïne, triméthopimes/sulfaméthoxazole ou une fluoroquinolone).<sup>6,7</sup>

Afin d'obtenir une information concernant la prédiction de la résistance à médiation *mecA* dans les espèces de *Staphylococcus* en utilisant le test à la céfoxitine (30 µg), consulter le document M100-S21 du CLSI.

De même, pour une information relative aux procédures de test des espèces de *Staphylococcus* pour la résistance inducible à la clindamycine, consulter le document M100-S21.

**Enterococcus spp.** : Les entérocoques peuvent être résistants à la pénicilline et à l'ampicilline du fait de la production de protéines de faible affinité se liant à la pénicilline (PBP) ou de la production de β-lactamase. La procédure par diffusion sur disque en geléose peut détecter avec précision les isolats qui ont des PBP altérées, mais ne pourra pas détecter avec fiabilité les souches qui produisent une β-lactamase. La meilleure méthode pour détecter ces dernières souches consiste à utiliser un test direct des β-lactamases <sup>6</sup> par exemple, des disques **Cefinase** à nitrocéfine ou des disques à céphalosporines chromogènes. Pour les espèces d'*Enterococcus*, les céphalosporines, les aminoglycosides (sauf pour des tests de dépistage de la résistance de haut niveau), la clindamycine et le triméthopime/sulfaméthoxazole peuvent s'avérer actifs *in vitro*, mais sont sans effet clinique et, par conséquent, les isolats ne doivent pas être rapportés comme sensibles.

**Haemophilus spp.** : Seuls les résultats des tests pour l'ampicilline, une céphalosporine de troisième génération, le chloramphénicol et le méropénème doivent être rapportés en routine pour tous les isolats de *H. influenzae* issus de prélèvements de liquide céphalo-rachidien.

L'amoxicilline/l'acide clavulanique, l'azithromycine, la clarithromycine, le céfacierol, le cefprozil, le loracarbef, le cefdinir, la céfixime, la céfodoxime, le céfuroxime axétil et la téliثromycine sont des agents oraux qui peuvent être utilisés pour le traitement empêche d'infections des voies respiratoires dues à des espèces d'*Haemophilus*. Les résultats des antibiogrammes pour ces agents antimicrobiens n'ont en général pas d'utilité pour la prise en charge des patients individuels. Cependant, les antibiogrammes des espèces d'*Haemophilus* pour ces agents peuvent être utiles au suivi ou aux études épidémiologiques.

**Espèces de Streptococcus autres que S. pneumoniae** : Les tests de sensibilité aux pénicillines et aux β-lactamines approuvés par la *Food and Drug Administration* (FDA) américaine pour le traitement de *S. pyogenes* ou *S. agalactiae* n'ont pas d'utilité clinique et sont donc superflus en routine puisque, comme pour la vancomycine, aucune souche résistante n'a été identifiée. Les critères d'interprétation sont fournis à des fins de recherche pharmaceutique, d'épidémiologie ou de suivi de

l'apparition des nouvelles résistances. Toute souche qui donne des résultats intermédiaires ou résistants doit être envoyée à un laboratoire de référence pour confirmation.

De même, pour une information relative aux procédures de test des streptocoques β-hémolytiques pour la résistance inducible à la clindamycine, consulter le document M100-S21.<sup>7</sup>

**LIMITES DE LA METHODE**

- Le test décrit ici s'applique essentiellement aux bactéries aérobies à croissance rapide. Pour les bactéries exigeantes, outre *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* et les autres streptocoques, consulter le document M100 (*N. meningitidis*) ou M45.<sup>7,13</sup> Sinon les évaluer par une méthode de dilution. L'évaluation des anaérobies requiert des procédures spéciales.<sup>11</sup>
  - Les classifications Résistant, Intermédiaire et Sensible varient seulement d'un millimètre, ce qui correspond à une marge d'erreur courante en laboratoire. Certaines cultures peuvent donner une taille de zone de taille limite variant selon la journée ou le laboratoire ; ce type de culture est relativement rare.
  - Pour la détection de la résistance chez les pneumocoques et les entérocoques, suivre scrupuleusement les procédures recommandées par le CLSI.<sup>6</sup>
  - D'autres agents antimicrobiens que ceux cités dans le tableau sont parfois utilisés. Les tests de sensibilité à ces agents doivent être interprétés en se basant sur la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition nette, et considérés uniquement comme qualitatifs en attendant que les zones d'interprétation soient établies. Tous les diamètres des zones doivent être relevés.
  - Le test de confirmation de l'ESBL n'est valide que lorsque les quatre disques (céfotaxime, céfotaxime/acide clavulanique, ceftazidime, ceftazidime/acide clavulanique) sont utilisés simultanément. Le CLSI ne recommande pas l'utilisation individuelle de ces disques.<sup>6,7</sup>
  - L'obtention de résultats exacts dépend de conditions appropriées de conservation et de maintien des souches de contrôle de qualité. Ceci est particulièrement vrai pour *E. coli* ATCC 35218 et *K. pneumoniae* ATCC 700603, parce que la perte spontanée du plasmide codant la β-lactamase a été confirmée. Se reporter à la norme M2 du CLSI pour prendre connaissance des conditions appropriées recommandées de conservation et maintien des souches de contrôle de qualité.<sup>6</sup>
  - La capacité du produit à dételer des *Staphylococcus aureus* résistants à la vancomycine (VRSA) n'est pas connue. Des procédures de test additionnelles telles que recommandées par le CDC (Centers for Disease Control and Prevention) doivent être utilisées lors de l'exécution de tests de sensibilité sur des isolats de *S. aureus*, en particulier de *S. aureus* résistants à la méticilline (MRSA). Ces tests comprennent les méthodes de CMI non automatisées (par ex., microdilution en bouillon ou dilution en gélose) et le test de dépistage sur gélose pour la vancomycine (gélose cœur-cervelle avec 6 µg/mL de vancomycine). Ces tests demandent 24 heures complètes d'incubation pour la détection de VRSA. Pour plus ample information, se reporter au site Internet du CDC.<sup>12</sup>
- Partiellement adapté du document M100-S21 du CLSI (M2) : Disk Diffusion Supplemental Tables, Performance Standards For Antimicrobial Susceptibility Testing** [Tableaux supplémentaires pour diffusion sur disque, Normes de performances pour tests de sensibilité antimicrobienne], avec autorisation. La norme complète peut être obtenue auprès du Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 États-Unis. Les valeurs non comprises dans la norme M100-S21 sont expliquées dans les autres notes en bas de page. Pour les corrélations appropriées avec les CMI, se reporter à la norme M100\_ S21.<sup>6,7,9</sup>
- La classe « Intermédiaire » comprend les isolats dont les CMI d'agents antimicrobiens approchent en général les niveaux atteints dans le sang et les tissus et pour lesquels les taux de réponse peuvent être plus faibles que pour les isolats sensibles. La classe « Intermédiaire » suggère une possibilité d'application clinique au niveau des sites anatomiques où les antibiotiques sont physiologiquement concentrés (par exemple, quinolones et β-lactamines dans l'urine), ou lorsque des doses d'antibiotique plus élevées que la normale peuvent être administrées (p. ex., β-lactamines). La classe « Intermédiaire » comprend aussi une « zone tampon » qui devrait empêcher qu des facteurs techniques mineurs non contrôlés causent des discordances majeures d'interprétation, en particulier dans le cas d'antibiotiques ayant une marge de pharmacotoxicité étroite.
  - Des politiques relatives à la production d'antibiogrammes cumulatifs devraient être définies en accord avec le service des maladies infectieuses, le personnel engagé dans la prévention des infections et le comité de pharmacologie et de thérapéutique. Dans la plupart des cas, les pourcentages de résultats sensibles et intermédiaires ne devraient pas être combinés dans une même donnée statistique.
  - Ces normes de diamètre des zones et limites du contrôle de qualité s'appliquent seulement aux tests pour les espèces d'*Haemophilus* utilisant le milieu pour Test d'identification d'*Haemophilus* (MTH) avec incubation sous 5 % de CO<sub>2</sub> (16 à 18 h). *H. influenzae* (ATCC 10211) est recommandée comme souche de contrôle de qualité complémentaire pour vérifier les propriétés de facteur de croissance du MTH. La limite des zones doit être considérée comme la région ne montrant aucune croissance manifeste visible à l'œil nu. Une croissance peu visible de colonies minuscules ayant tendance à s'atténuer de la zone la plus apparente ne doit pas être prise en compte lors de la mesure. Lors de tests d'*Haemophilus* vis-à-vis de l'association amoxicilline/acide clavulanique sur gélose HTM, inclure *E. coli* ATCC 35218 comme souche de contrôle. Les limites acceptables pour *E. coli* ATCC 35218 sont 17-22 mm pour l'association amoxicilline/acide clavulanique lorsqu'incubé dans l'air ambiant.
  - Ces normes de diamètre des zones et limites du contrôle de qualité s'appliquent seulement aux tests utilisant une geléose GC additionnée d'1 % d'un supplément de croissance déterminé (p. ex., gélose **BBL GC II** enrichie d'**IsoVitalEx**) avec incubation sous 5 % de CO<sub>2</sub> (20 à 24 h).
  - Ces normes de diamètre des zones et limites du contrôle de qualité s'appliquent seulement aux tests utilisant une geléose Mueller Hinton enrichie de 5 % de sang de mouton défibriné, avec incubation sous 5 % de CO<sub>2</sub> (20 à 24 h). Les normes d'interprétation s'appliquent à *S. pneumoniae* et aux autres streptocoques comme indiqué. Les résultats peuvent être inexactis si les critères spécifiés sont appliqués à des microorganismes autres que ceux qui ont été mentionnés. Les critères d'interprétation pour les streptocoques autres que *S. pneumoniae* sont proposés sur la base de la distribution des populations des diverses espèces, la pharmacocinétique des agents antimicrobiens, les études déjà publiées et l'expérience clinique de certains membres du sous-comité du CLSI. Des données cliniques systématiquement prélevées n'étaient pas disponibles pour de nombreux composés du groupe.<sup>7</sup> En dépit du manque de critères d'interprétation fiables de la diffusion sur disque pour *S. pneumoniae* avec certaines β-lactamines, *S. pneumoniae* ATCC 49619 est la souche retenue pour le contrôle de qualité de tous les tests de diffusion sur disque réalisés avec les espèces de *Streptococcus*.
  - Diamètres des zones recommandés par les fabricants d'antibiotiques et approuvés par la FDA, non inclus dans le document M100-S21 du CLSI (M2-A10).<sup>7</sup>
  - Une autre souche d'*E. coli* (ATCC 35218) a été désignée pour le contrôle de qualité des disques contenant des associations de β-lactamines et d'inhibiteurs de β-lactamases. Cette souche produit une β-lactamase qui devrait être inactivée par l'inhibiteur. Lorsqu'elle est utilisée conjointement avec la souche ATCC 25922, les deux composants des disques mixes peuvent être évalués. Les limites de contrôle avec cette souche sont 17 à 22 mm pour l'association amoxicilline/acide clavulanique, 6 mm pour l'ampicilline (soit pas de zone), 13-19 mm pour l'association amplicilline/sulbactam, 12 à 18 mm pour la pipéracilline, 24 à 30 mm pour l'association pipéracilline/tazobactam, 6 mm pour la ticarilline (soit pas de zone) et 21 à 25 mm pour l'association ticarilline/acide clavulanique. La souche de contrôle *E. coli* ATCC 35218 contient une β-lactamase codée par un plasmide (non-ESBL) ; par conséquent, l'organisme est résistant à deux nombreux antibiotiques labiles à la pénicillinase, mais sensible aux associations β-lactamine/inhibiteur de β-lactamase. Le plasmide doit être présent dans la souche de contrôle pour que le test de contrôle de qualité soit valide ; le plasmide peut cependant être perdu pendant la conservation aux températures du réfrigérateur comme du congélateur. Se reporter aux « Limites de la méthode » et au document M2 pour plus ample information.
  - Les isolats de pneumocoques donnant pour l'oxacilline des diamètres de zone ≥ 20 mm sont sensibles (CMI ≤ 0,06 µg/mL) à la pénicilline et peuvent être considérés comme sensibles à l'amoxicilline, à l'amoxicilline, aux associations amoxicilline/acide clavulanique et amplicilline/sulbactam, au céfacierol, au cefdinir, au céfixime, au céfématam, à la céfixime, au céfotaxime, au cefprozil, au ceftibuten, à la ceftriaxone, au céfuroxime, à la céfopodoxime, au céftrizoxime, à l'ertapénème, à l'imipénème, au loracarbef et au méropénème si la prescription en est indiquée, et ces agents n'ont pas besoin d'être testés. Les CMI de la pénicilline et du céfotaxime ou de la ceftriaxone ou du méropénème doivent être déterminés pour les isolats présentant pour l'oxacilline des diamètres de zone ≤ 19 mm parce que des diamètres de zone ≤ 19 mm sont obtenus avec des souches résistantes à la pénicilline, des souches intermédiaires ou certaines souches sensibles. Les isolats ne doivent pas être considérés comme résistants à la pénicilline ou intermédiaires uniquement sur la base d'une zone ≤ 19 mm pour l'oxacilline. L'ampicilline, l'ampicilline, le céfépime, le céfotaxime, la ceftriaxone, le céfuroxime, l'ertapénème, l'imipénème et le méropénème peuvent être utilisés pour traiter les infections à pneumocoques, mais ces tests de sensibilité fiables par la méthode de diffusion sur disque en geléose n'existent pas encore pour ces agents. Leur activité *in vitro* est mieux déterminée au moyen d'une méthode CMI. La pénicilline et le céfotaxime ou la ceftriaxone ou le méropénème doivent être testés par une méthode CMI fiable (telle que celle décrite dans le document M7<sup>9</sup> du CLSI) et rapportés en routine pour des isolats sanguins et de LCR de *S. pneumoniae*. De tels isolats doivent aussi être testés vis-à-vis la vancomycine au moyen d'une méthode CMI ou de diffusion sur disque. Avec des isolats provenant d'autres sites, le test de dépistage au disque à l'oxacilline peut être utilisé. Les CMI de la pénicilline et du céfotaxime ou de la ceftriaxone doivent être déterminées lorsque le diamètre de zone est ≤ 19 mm pour l'oxacilline. Pour déterminer la sensibilité des streptocoques autres que *S. pneumoniae* au cefdinir, utiliser le disque à 10 unités de pénicilline ; les isolats donnant des diamètres de zone ≥ 28 mm sont sensibles à la pénicilline et peuvent être considérés comme sensibles au cefdinir.
  - Un isolat de streptocoque qui est sensible à la pénicilline peut être considéré comme étant sensible à l'ampicilline, l'amoxicilline, l'amoxicilline/ acide clavulanique, l'ampicilline/sulbactam, au céfacierol, au cefdinir, au céfixime, au cefprozil, au céfotaxime, au ceftibuten (streptocoques du groupe A seulement), à la ceftriaxone, au céfuroxime, à la céfopodoxime, au ceftizoxime, à la céfalotine, à la céfapirine, à la céfadine, à l'imipénème, au loracarbef et au méropénème si la prescription en est indiquée, et n'a pas besoin d'être testé vis-à-vis de ces agents. Les streptocoques viridans, y compris ceux isolés à partir du sang et de sites anatomiques normalement stériles (p. ex., liquide céphalo-rachidien, sang, os, etc.) doivent être testés au moyen d'une méthode CMI quant à leur sensibilité à la pénicilline ou l'ampicilline.
  - Les staphylocoques sensibles à la pénicilline sont aussi sensibles à d'autres pénicillines, associations β-lactamine/inhibiteur de β-lactamase, céphèmes et carbapénèmes, dont l'emploi a été approuvé par la FDA pour traiter les infections à staphylocoques. Les souches résistantes à la pénicilline et sensibles à l'oxacilline sont résistantes aux pénicillines sensibles aux pénicillinasés, mais sensibles aux autres pénicillines résistantes aux pénicillinasés, aux associations β-lactamine/inhibiteur de β-lactamase, aux céphèmes appropriés et aux carbapénèmes. Les staphylocoques résistants à l'oxacilline sont résistants à tous les antibiotiques de la famille des β-lactamines actuellement disponibles. Ainsi, la sensibilité ou la résistance à une large gamme d'antibiotiques de la famille des β-lactamines peut être dérivée des seuls tests vis-à-vis de la pénicilline et l'oxacilline. Des tests de routine des autres pénicillines, des associations de β-lact

rr Les tests de sensibilité de *S. pyogenes* à la pénicilline sont rarement nécessaires puisque ce microorganisme est resté universellement sensibel à la pénicilline. Certaines souches de *S. agalactiae* peuvent toutefois donner des résultats intermédiaires vis-à-vis de la pénicilline.<sup>7</sup>

ss La tigeicycline présente *in vitro*, une activité réduite sur les espèces de *Morganella*, *Proteus* et *Providencia*.<sup>8</sup>
tt Le disque de sulfisoxazole peut être utilisé comme représentant de n’importe quel sulfamide actuellement commercialisé. Les milieux contenant du sang (à l’exception de ceux contenant du sang de cheval lyse) ne conviennent généralement pas pour tester les sulfamides ou le triméthoprime. La gélose Mueller Hinton doit contenir le moins possible de thymidine pour tester les sulfamides et/ou le triméthoprime. Pour déterminer si la gélose Mueller Hinton a des niveaux suffisamment faibles de thymine et de thymidine, on peut tester les souches d’*Enterococcus faecalis* ATCC 29242 ou ATCC 33186 avec des disques de triméthoprime-sulfaméthoxazole (voir réf. 13). Une zone d’inhibition ≥ 20 mm, qui est essentiellement dépourvue de petites colonies, indique un niveau suffisamment faible de thymine et de thymidine.<sup>9</sup>

uu Les gonocoques donnant des diamètres de zone ≤ 19 mm autour d’un disque de tétracycline 30 µg correspondent en général à un isolat de *Neisseria gonorrhoeae* résistant à la tétracycline (TRNG) dont la résistance est à médiation plasmidique. Ces souches devraient être confirmées par un test de dilution (CMI ≥ 16 µg/ml) et/ou envoyées à un laboratoire public pour enquête épidémiologique.

vv Tous les isolats de staphylocoques associés à des diamètres de zone pour la vancomycine de 14 mm ou moins doivent être testés par une méthode de CMI de référence. La procédure de diffusion sur disque ne pourra différencier les souches présentant une sensibilité réduite à la vancomycine (CMI de 4 à 8 µg/ml) des souches sensibles (CMI comprise entre 0,5 et 2 µg/ml), même après 24 h d’incubation. De plus les souches de *S. aureus* résistantes à la vancomycine (VRSA) (CMI ≥ 16 µg/ml) peuvent croître seulement de manière subtile autour d’un disque à la vancomycine. Le test de dépistage sur gélose pour la vancomycine décrit pour les entérocoques (gélose cœur-cervelle avec 6 µg/ml de vancomycine) peut être utilisé pour améliorer la sensibilité de la détection des souches résistantes et intermédiaires à la vancomycine de *S. aureus*, en incubant les géloses pendant 24 h complètes à 35 °C.<sup>6</sup>
Utilisation d’une souche de contrôle de qualité sensible, telle que *E. faecalis* ATCC 29212 est essentielle pour assurer la spécificité. La souche *E. faecalis* ATCC 51299 peut être utilisée comme contrôle positif (c’est-à-dire résistant). Tant que des informations complémentaires sur la prévalence ou la signification clinique de ces isolats ne sont pas disponibles, les laboratoires peuvent juger bon d’examiner les souches MRSA avec plus d’attention afin de détecter des CMI élevées pour la vancomycine.<sup>6</sup>
A l’heure actuelle il n’y a pas assez de données pour permettre de recommander l’utilisation de ce test de dépistage sur gélose pour les staphylocoques à coagulase négative. Envoyer tout staphylocoque avec une CMI élevée vis-à-vis de la vancomycine (≥ 4 µg/ml) à un laboratoire de référence.

ww Lorsque l’on teste l’action de la vancomycine contre des entérocoques, les géloses devraient être conservées pendant 24 h complètes et examinées par transparence à la lumière ; la présence d’un voile ou de toute autre forme de croissance à l’intérieur de la zone d’inhibition indique une résistance. Les microorganismes présentant des zones intermédiaires doivent être testés avec une méthode de CMI comme décrit dans le document M7 du CLSI. Consulter aussi le test de dépistage sur gélose pour la vancomycine décrit dans le tableau 2D des CMI (M100-S21).<sup>9</sup>

xx On n’a jamais été observé de souche de *S. pneumoniae* donnant un diamètre de zone d’inhibition pour la vancomycine < 17 mm ; envoyer de telles souches à un laboratoire de référence.<sup>7</sup>

yy En raison du nombre limité d’autres possibilités, le chloramphénicol, l’érythromycine, la tétracycline (ou la doxycycline ou la minocycline) et la rifampicine peuvent être utilisés pour les entérocoques résistants à la vancomycine (VRE) et il est recommandé de consulter un spécialiste des maladies infectieuses.<sup>7</sup>

zz Aucun critère n’a été établi en faveur de tests de cet antibiotique avec *N. gonorrhoeae*. La plage de contrôle est donnée uniquement à des fins de contrôle de qualité.

aaa On n’a jamais observé de souche de streptocoques β-hémolytiques donnant un diamètre de zone d’inhibition de moins de 24 mm pour l’ampicilline, le céfépime, le céfotaxime, la ceftriaxone ou la pénicilline ; envoyer de telles souches à un laboratoire de référence.

bbb La détérioration du contenu des disques d’oxacilline s’évalue dans les meilleures conditions avec *S. aureus* ATCC 25923, avec un diamètre de zone acceptable de 18 à 24 mm.

ccc Pour l’ampicilline, le céfépime, la céfotaxime, la ceftriaxone et la pénicilline, les **streptocoques β-hémolytiques uniquement**, comprennent les couples de streptocoques pyogéniques formatrices de grandes colonies avec les antigènes de groupe A (*S. pyogenes*), C ou G et les souches avec l’antigène de groupe B (*S. agalactiae*). Pour le céfépime, la céfotaxime et la ceftriaxone, les **streptocoques Viridans** comprennent les souches β-hémolytiques formatrices de petites colonies avec les antigènes du groupe A, C, F ou G (*S. anginosus*, anciennement appelé *S. milleri*), ainsi que *S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. intermedius*, *S. constellatus*, *S. mutans* et *S. bovis*.

ddd Les souches de *Salmonella* sensibles aux fluoroquinolones résistantes à l’acide nalidixique peuvent être associées à un échec thérapeutique ou à une réponse retardée chez les patients traités par fluoroquinolones pour une salmonellose extraintestinale. Les isolats intraintestinaux de *Salmonella* doivent également être testés pour la résistance à l’acide nalidixique. Pour les isolats qui sont sensibles aux fluoroquinolones et résistants à l’acide nalidixique, il faut communiquer au médecin que l’isolat ne peut pas être éradiqué par un traitement à la fluoroquinolone. Il est recommandé de consulter un spécialiste des maladies infectieuses.

eee Aucun critère n’a été établi en faveur de tests de cet antibiotique avec *S. aureus*. La plage de contrôle est donnée uniquement à des fins de contrôle de qualité.

**RÉFÉRENCES**: Voir la rubrique « References » du texte anglais.

## BD BBL Sensi-Disc Antimicrobial Susceptibility Test Discs (Testblättchen zur antimikrobiellen Empfindlichkeitsprüfung)

Deutsch

**VERWENDUNGszweCK** – Diese Blättchen sind zur halbquantitativen *In-vitro*-Empfindlichkeitsprüfung von häufig vorkommenden, schnell wachsenden und bestimmten anspruchsvollen bakteriellen Erregern mit Hilfe des Agar-Blättchen-Diffusionsverfahrens bestimmt. Zu diesen Erregern gehören *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Vibrio cholerae* und, mit abgewandelten Verfahren, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* und andere Streptokokken. HINWEIS: Spezielle Verfahren sind notwendig, um Pneumokokken, Enterokokken und methicillin-oxacillinresistente Staphylokokken nachzuweisen. Um β-Lactamase-Tests sowie Such- und Bestätigungstests für Breitspektrum-β-Lactamasen (ESBL, extended spectrum β-lactamases) durchzuführen; siehe Abschnitt „ERGBENISSE“.

Die in Frankreich angenommenen Interpretationskriterien für die Zonendurchmesser sind in den französischen Anleitungen dieser Packungsbeilage aufgeführt.
---

**ZUSAMMENFASSUNG UND ERKLÄRUNG** – Agar-Diffusionsverfahren unter Verwendung von getrockneten Filterpapierblättchen, die mit bestimmten Konzentrationen von antimikrobiellen Substanzen imprägniert sind, wurden in den 40er Jahren entwickelt. Um die Testvariabilität zu minimieren oder auszuschalten, entwickelten Bauer et al. ein Standardverfahren, bei dem Mueller-Hinton-Agar als Testmedium verwendet wird.<sup>1,2</sup>

Im Anschluss daran veröffentlichten mehrere Ausführungsbehörden und Organisationen zur Festlegung von Normen Standard-Referenzverfahren auf der Grundlage der Bauer-Kirby-Methode. Zu den frühesten und gebräuchlichsten dieser Standardverfahren gehörten die von der U.S. Food and Drug Administration (FDA) und der Weltgesundheitsorganisation (WHO)<sup>3,4</sup> veröffentlichten Methoden. Das Verfahren nach Bauer-Kirby wurde von dem Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, vormals NCLSI) als gemeinsamer Standard anerkannt und wird regelmäßig aktualisiert.<sup>6,7</sup> Für die aktuellen Empfehlungen wird auf die jüngsten CLSI-Dokumente verwiesen.

**VERFAHRENSGRUNDLAGEN** – Blättchen mit verschiedenen antimikrobiellen Substanzen werden auf die Oberfläche von Mueller-Hinton-Agarplatten (oder Haemophilus-Testmediumagar zum Nachweis von *H. influenzae*, GC II-Agar mit IsoVitaleX-Anreicherungsmedium für *N. gonorrhoeae* oder Mueller-Hinton-Agar mit 5 % Schafblut für *S. pneumoniae*, β-hämolytische Streptokokken und Streptokokken der Viridans-Gruppe) gebracht, die wie Reinkulturen klinischer Isolate beimischt wurden. Nach der Inkubation werden die Platten untersucht, die Hemmzonen um die Blättchen gemessen und dann mit festgelegten Hemmzonengrößen für einzelne antimikrobielle Substanzen verglichen, um die Substanz(en) zu bestimmen, die für eine Antibiotikatherapie am besten geeignet ist/sind.

**REAGENZIE**n – Sensi-Disc-Testblättchen sind 6 mm große Blättchen, die hergestellt werden, indem qualitativ hochwertiges saugfähiges Papier mit genau bemessenen Mengen von Antibiotika oder anderen chemotherapeutisch wirksamen Substanzen imprägniert wird. Die Blättchen besitzen auf beiden Seiten eindeutig erkennbare Buchstaben und Ziffern zur Identifizierung des Antibiotikums und zur Angabe der verwendeten Wirkstoffmenge. (Vgl. die Tabelle mit den Konzentrationen der reaktiven Bestandteile.) Die in den Blättchen enthaltene Arzneimittelmenge wird mit von der FDA festgelegten Methoden oder mit Methoden, die denen im US-Bundesregister (*United States Federal Register*) ähnlich sind oder gleichen, bestimmt.

Die Sensi-Disc-Wirkstoffe werden in Kartuschen zu jeweils 50 Blättchen geliefert. Das letzte Blättchen in jeder Kartusche ist mit einem „X“ gekennzeichnet und enthält das durch den Code ausgewiesene Antibiotikum. Die Kartuschen werden in **BBL Sensi-Disc**-Dispensern verwendet; es sind dies ein 1-Blättchen-Dispenser, ein 8-Blättchen-Dispenser für Petrischalen von 100 mm und 6- bzw. 8-Blättchen-Dispenser mit automatischer Andruckvorrichtung für Petrischalen von 100 mm und ein 12-Blättchen-Dispenser mit automatischer Andruckvorrichtung für Petrischalen von 150 mm.

**Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen: In-vitro-Diagnostikum**

Die Gebrauchsanleitung befolgen. Die Leistungsfähigkeit der Blättchen hängt nicht nur von der Substanzkonzentration auf den Blättchen, sondern auch von der Verwendung eines geeigneten Inokulums und geeigneter Kontrollkulturen, funktionsfähiger, vorgesteter Platten, vorschriftsmäßiger Lagerungstemperatur und anderen Faktoren ab.

Der Umgang mit mikrobiologischem Material sollte bei allen Verfahren unter Einhaltung aseptischer Arbeitsweise und der allgemein üblichen Vorsichtsmaßnahmen erfolgen. Nach Gebrauch Kulturen, Behälter und andere kontaminierte Materialien sterilisieren.

**Aufbewahrung:**

1. Blättchen nach Erhalt bei -20 – +8 °C aufbewahren. Wird der Laborkühlschrank häufig geöffnet und geschlossen und die richtige Temperatur kann nicht aufrechterhalten werden, nur die für eine Woche ausreichende Menge Blättchen in diesem Kühlschrank lagern. Einige Blättchen (z. B. solche, die β-Lactame enthalten) sind vorzugsweise bei -20 °C tiefgekühlt aufzubewahren.

2. Behälter vor dem Öffnen auf Raumtemperatur erwärmen lassen. Nach dem Dispensieren die unbenutzten Blättchen wieder im Kühlschrank aufbewahren. Blättchen nach dem Öffnen in einem fest versiegelten, trockenen Behälter aufbewahren.

3. Die ältesten Blättchen zuerst verwenden.

4. Verfallene Blättchen entsorgen. Außerdem sollte Kartuschen, aus denen während einer Woche häufig Blättchen entnommen wurden sowie Blättchen, die über Nacht nicht im Kühlschrank aufbewahrt wurden, entsorgt werden. Zumindest sollten diese Blättchen vor einer weiteren Verwendung auf akzeptable Leistungsfähigkeit hin getestet werden.

5. Falls die Blättchen mit den empfohlenen Kontrollorganismen falsche Hemmzonen ergeben, muss das gesamte Verfahren überprüft werden. Die Ursache einer falschen Hemmzonengröße kann auf den Blättchen, der Inokulation, der Vorbereitung oder Tiefe (ungefähr 4 mm) des Mediums und anderen Faktoren beruhen.

Das angegebene Verfallsdatum gilt nur für in ungeöffneten Packungen aufbewahrte Blättchen und bei Beachtung der entsprechenden Lagervorschriften.

**KLINISCHES MATERIAL** – Normalerweise sollte klinisches Material bei diesem Test nicht direkt verwendet werden. Siehe die Anleitung mit Anweisungen zur Zubereitung des Inokulums. Falls möglich, sollten die Kulturen aus klinischem Material angelegt werden, das den Patienten vor Beginn einer Antibiotikatherapie entnommen wurde.

**VERFAHREN**

**Mitgeliefertes Arbeitsmaterial:** Sensi-Disc-Testblättchen zur Empfindlichkeitsprüfung je nach Kennzeichnung.

**Benötigtes, jedoch nicht mitgeliefertes Arbeitsmaterial:** Zusätzliche Kulturmedien, Reagenzien, Bakterienstämmen zur Qualitätskontrolle und erforderliche Laborgeräte zur Durchführung einer Blättchen-Empfindlichkeitsprüfung mit dem Diffusionstest nach dem Standardverfahren. Einen 0,5-McFarland-Trübungsstandard herstellen, indem 0,5 mL 0,048 M BaCl<sub>2</sub> [1,175 % (Gew./Vol.) BaCl<sub>2</sub>•2H<sub>2</sub>O] zu 99,5 mL 0,18 M [0,36N] H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [1 % (Vol./Vol.)] zugegeben werden. Den Trübungsstandard mit Hilfe eines Spektralphotometers mit Vergleichsküvette bei einer Schichtdicke von 1 cm überprüfen; die Extinktion bei 625 nm muss zwischen 0,08 und 0,13 liegen.

**Anleitungen, einschließlich Qualitätssicherung durch den Anwender:<sup>6</sup>**

1. Zubereitung des Inokulums mit Test- und Kontrollkulturen.

a. Eine Gramfärbung anfertigen. Nur Reinkulturen verwenden.

b. Drei bis fünf ähnliche Kolonien auswählen und mit Inokulationsnadel oder -öse in 4 – 5 mL einer geeigneten Bouillon, wie z. B. **Trypticase**-Soja-Bouillon (oder Mueller-Hinton-Bouillon für anspruchsvolle Organismen), überführen.

c. Falls nötig, die Kulturen in der Bouillon bei 35 °C 2 – 6 h lang inkubieren, bis eine Trübung erreicht ist, die einem Trübungsstandard von 0,5 McFarland entspricht (ungefähr 1 bis 2 × 10<sup>8</sup> KBE/mL). Es kann auch als Alternative eine direkte Bouillon- oder Kochsalzsuspension mit Kolonien von einer Agarplatte, oder nach Nacht inkubiert wurde, hergestellt werden (es sollte ein nichtselektives Medium wie Blutagar oder Schokoladenagar für *H. influenzae* und *N. gonorrhoeae* verwendet werden). Die direkte Kolonie-Suspensionsmethode ist bei **Staphylococcus** spp., *S. pneumoniae* und anderen Streptokokken, **Haemophilus** spp. und *N. gonorrhoeae* vorzuziehen.<sup>6</sup>

d. Falls nötig, verdünnen, bis die Trübung dem 0,5-McFarland-Trübungsstandard entspricht. Als Verdünnungsmittel wird sterile Bouillon oder Kochsalzlösung verwendet. Als Alternativmethode kann das Inokulum photometrisch standardisiert werden. Um die Einstellung des Inokulums von schnell wachsenden Organismen zu erleichtern, kann das **Prompt** Inokulationssystem (volumetrische Vorrichtung zur Zubereitung des Inokulums) verwendet werden.<sup>8</sup>

Über Nacht aufbewahrte Bouillonkulturen sollten nicht als Inokulum verwendet werden.

- Inokulation.
  - Innerhalb von 15 min einen sterilen Wattetupfer in das korrekt eingestellte Inokulum tauchen und gegen die obere Innenwand des Röhrchens mehrmals fest hin und her drehen, um überschüssige Flüssigkeit auszudrücken.
  - Die gesamte Oberfläche einer Mueller-Hinton-Agarplatte (oder einer anderen geeigneten Agarplatte) dreimal austreichen, wobei die Platte zwischen jedem Austreichen um 60 Grad gedreht wird, um eine gleichmäßige Inokulation zu erzielen.
  - Der Deckel kann 3 – 5 min, aber nicht länger als 15 min geöffnet bleiben, damit eventuelle oberflächliche Feuchtigkeit gut dem Aufbringen der Arzneimittel imprägnierten Blättchen absorbiert wird.
- Geeignete Blättchen auswählen (siehe Empfehlungen in Literaturangabe 7, Tabellen 1A und 1B von M100 [M2]).
- Die Blättchen mit einem **BBL** Dispenser unter Beachtung aseptischer Vorsichtsmaßnahmen auflegen. Dabei die Blättchen so absetzen, dass deren Zentren mindestens 24 mm auseinander liegen. Penicillin- und Cephalosporin-Testblättchen vorzugsweise mindestens 10 mm vom Rand der Petrischale und mit einem Abstand von mindestens 30 mm zwischen den Blättchenzentren platzieren. Diese Blättchen nicht nebeneinander platzieren. Bei *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* und *S. pneumoniae* nicht mehr als neun Blättchen pro 150-mm-Platte bzw. vier Blättchen pro 100-mm-Platte verwenden. Würden die Blättchen nicht mit Dispensern mit automatischer Andrückvorrichtung auf dem Agar platziert, Blättchen für guten Kontakt mit der Plattenoberfläche mit einer sterilen Nadel oder Pinzette andrücken.
- Die Platten mit dem Agar noch oben innerhalb von15 min in einen Inkubator von 35 ± 2 °C einbringen (für *Staphylococcus* spp. können bei Tests mit Temperaturen über 35 °C möglicherweise methicillinresistente Staphylokokken (MRS) nicht nachgewiesen werden; *N. gonorrhoea* bei 36 ± 1 °C inkubieren [37 °C nicht überschreiten]. *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* und andere Streptokokken sollten in einer mit 5 % CO<sub>2</sub> angereicherten Atmosphäre inkubiert werden.
- Die Platten nach einer Inkubationszeit von 16 – 18 h (20 – 24 h für *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* und andere Streptokokken) untersuchen. Für *Staphylococcus* spp. wird die volle Inkubationszeit von 24 h empfohlen, um methicillin-/nafcillin-/oxacillinresistente Staphylokokken nachzuweisen; das Gleiche gilt für den Nachweis von vancomycinresistenten *Enterococcus* spp. Die Durchmesser der Hemmzonen, die bei visueller Überprüfung eine vollständige Hemmung aufweisen, werden gemessen. Die Zonendurchmesser werden auf den nächsten Millimeter gerundet. Weitere Einzelheiten zur Messung der Hemmzonen sind der Literatur zu entnehmen.<sup>6</sup> Wenn nur einzeln bestehende Kolonien gewachsen sind, war das Inokulum zu dünn und die Hemmzonen sind nicht wiederholt werden. Hemmzonen um Plättchen mit verschiedenen Arzneimitteln sind nicht zum Vergleich der Arzneimittelwirksamkeit geeignet. Siehe die Tabelle zur Interpretation der Hemmzonen, die zu erwartende Werte aus Tests mit häufig vorkommenden Aerobiern enthält. Die Verwendung eines **BBL Sensi-Disc** Zone Interpretation Set kann die Hemmzonenummessung vereinfachen.
- Kontrolltests mit vorgeschriebenen Kulturen sollten an jedem Tag, an dem Empfindlichkeitsprüfungen durchgeführt werden, mitlaufen. Falls eine laut CLSI-Standard<sup>6</sup> zufrieden stellende Testleistung dokumentiert werden kann, können die Kontrolltests wöchentlich durchgeführt werden. Typische Hemmzonengrößen für *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *H. influenzae* ATCC 49247, *H. influenzae* ATCC 49766, *N. gonorrhoeae* ATCC 49226, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *E. coli* ATCC 35218 (β-Lactamase-produzierender Stamm) und *E. faecalis* ATCC 29212 (zur Qualitätskontrolle von Blättchen mit 120 µg Gentamicin und 300 µg Streptomycin) und *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (zur Durchführung von Such- und Bestätigungstests für ESBL) sind in der Tabelle oder in den Fußnoten) aufgeführt und zeigen die einwandfreie Leistungsfähigkeit des gesamten Verfahrens an. *E. faecalis* ATCC 29212 (oder 33186) wird auch zur Überprüfung eines niedrigen Thymin- und Thymidingehalts in neuen Chargen von Mueller-Hinton-Agar empfohlen (siehe Fußnote t). *H. influenzae* ATCC 10211 wird als nützlicher Bakterienstamm zur zusätzlichen Qualitätskontrolle empfohlen, um die wachstumsstimulierenden Eigenschaften von *Haemophilus*-Testmediumagar zu überprüfen.<sup>7</sup>

**ERGBENISSE<sup>6,7</sup>** – HINWEIS: Die empfohlenen Interpretationskriterien basieren auf gebräuchlichen Dosierungen und Verabreichungswegen in den USA.

Ab dem Jahr 2006 führte das CLSI Interpretationsbereiche für Hemmzonendurchmesser für *Neisseria meningitidis*, *Burkholderia cepacia* und *Stenotrophomonas maltophilia* ein. Diese Bereiche sind CLSI M100-S21<sup>7</sup> oder der aktuellsten M100-Ergänzung zu entnehmen. Zusätzlich kann die CLSI-Richtlinie M45 – *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria* – herangezogen werden, um Informationen für das Testen eines breiten Spektrums von Organismen, einschließlich *Campylobacter*, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp. usw.<sup>9</sup> zu erhalten. Für Organismen, die in der beiliegenden Tabelle oder der angegebenen Literatur nicht aufgeführt sind, liegen bislang noch keine adäquaten Studien vor, aus denen sich reproduzierbare Standards für die Interpretation der Ergebnisse entwickeln lassen. Falls notwendig, ist normalerweise eine Verdünnungsmethode die am besten geeignete Testmethode, bei der ggf. der Organismus an ein Referenzlabor geschickt werden muss.

In einigen Fällen hat das CLSI neue Bereiche für Hemmzonendurchmesser für Interpretations- und Qualitätskontrollkriterien eingeführt. Aufgrund dieser Änderung wurde Fußnote „aa“ hinzugefügt, die darauf hinweist, dass die von der FDA zugelassenen Hemmzonendurchmesser sich von den aktuellen CLSI-Empfehlungen unterscheiden.

Die gemessenen Zonendurchmesser werden mit denen in der Tabelle verglichen. Die Ergebnisse für einen spezifischen Organismus können als resistent, intermediär oder empfindlich bewertet werden. Für manche Kombinationen von Organismen und Antibiotika schließt die Abwesenheit oder das Auftreten von selten vorkommenden resistenten Stämmen die Festlegung von Ergebniskategorien mit Ausnahme von „Empfindlich“ aus. Bei Stämmen mit Ergebnissen, die auf die Kategorie „Unempfindlich“ hindeuten, sollten Organismus-Identifikations-Tests und antimikrobielle Empfindlichkeitstests bestätigt werden. Danach sollten die Isolate aufbewahrt und an ein Referenzlabor gegeben werden, das die Ergebnisse mittels einer CLSI-Referenz-Verdünnungsmethode bestätigt.<sup>6</sup>

Bei *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae* und *Moraxella catarrhalis* kann ein schnell reagierender β-Lactamase-Test (z. B. mit **Cefinase**-Testblättchen) schneller klinisch relevante Ergebnisse liefern als ein Blättchen-Diffusionstest. Ein β-Lactamase-Test ist auch der einzig zuverlässige Test zum Nachweis von β-Lactamase-produzierenden *Enterococcus* spp. Mit einem positiven β-Lactamase-Test kann Resistenz gegen Penicillin, Ampicillin und Amoxicillin bei *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae* und *M. catarrhalis* und Resistenz gegen Penicillin, einschließlich Amino-, Carboxy- und Ureidopenicilline bei Staphylokokken und Enterokokken vorausgesagt werden. Ein negativer β-Lactamase-Test schließt ein Resistenz aufgrund anderer Mechanismen nicht aus. *Enterobacteriaceae* und *Pseudomonas* spp. sowie andere aerobe gramnegative Erreger sollten nicht getestet werden, da die Ergebnisse keine sichere Vorhersage der Empfindlichkeit gegen die therapeutisch am häufigsten verwendeten β-Lactam-Antibiotika erlauben. Zum genauen Nachweis von β-Lactamase bei Staphylokokken ist u. U. eine Enzyminduktion und Inkubation eines Tests auf Nitrocefïn-Basis bis zu 1 h erforderlich. Dies lässt sich leicht erreichen, indem Bakterien vom Rand der Hemmzone eines Oxacillin-Blättchens getrennt sind. Auf die Erhaltung genauer Ergebnisse muss sorgfältig geachtet werden. Hierzu gehört das Testen beiderseits positiver und negativer Kontrollstämmen zur Zeit der Untersuchung von klinischen Isolaten.<sup>6</sup>

**Enterobacteriaceae:** Wenn Fäkalisolate von *Salmonella* und *Shigella* spp. untersucht werden, sollten nur Ampicillin, ein Chinolon und Trimethoprim/Sulfamethoxazol routinemäßig getestet und dokumentiert werden. Darüber hinaus sollten extraintestinale Isolate von *Salmonella* spp. auf Empfindlichkeit gegen Chloramphenicol und ein Cephalosporin der dritten Generation getestet und dokumentiert

werden. Bei *Salmonella* und *Shigella* spp. können Aminoglycoside sowie Cephalosporine und Cephamycine der ersten und zweiten Generation *in vitro* aktiv erscheinen, sind aber klinisch nicht wirksam und Isolate sollten nicht als empfindlich dokumentiert werden.<sup>7</sup>

*Enterobacter*, *Citrobacter* und *Serratia* können während längerer Therapie mit Cephalosporinen der dritten Generation resistent werden. Deshalb können anfangs empfindliche Isolate innerhalb von 3 bis 4 Tagen nach Therapiebeginn resistent werden. Wiederholte Isolate-Tests müssen ggf. durchgeführt werden.<sup>7</sup>

Breitspektrum-β-Lactamasen (ESBL) sind von gramnegativen Erregern produzierte Enzyme, die durch Mutation in Genen für normale plasmidvermittelte β-Lactamasen entstehen. Stämme von *Klebsiella* spp. und *E. coli*, die ESBL produzieren, sind möglicherweise trotz scheinbarer *In-vitro*-Empfindlichkeit gegen einige dieser Substanzen therapieresistent. Manche dieser Stämme zeigen Hemmzonen, die unterhalb der für eine normal empfindliche Population jedoch oberhalb der normalen Grenzwerte für bestimmte Breitspektrum-Cephalosporine oder Aztreonam liegen. Solche Stämme sollten unter Anwendung der ESBL-Grenzweite auf potentielle ESBL-Produktion getestet werden, bevor Ergebnisse für Penicilline, Breitspektrum-Cephalosporine oder Aztreonam angegeben werden. Andere Stämme erweisen sich gegebenenfalls im Test mit Hilfe der normalen Grenzwerte als intermediär oder resistent gegen eine oder mehrere dieser Substanzen. Bei allen ESBL-produzierenden Stämmen sollten die Zonendurchmesser für eines oder mehrere der Breitspektrum-Cephalosporine oder für Aztreonam in Gegenwart von Clavulansäure im phänotypischen Bestätigungstest größer werden. Bei allen bestätigten ESBL-produzierenden Stämmen sollte die Testinterpretation als resistent gegen alle Penicilline, Cephalosporine und Aztreonam angegeben werden. Die siehe Fußnote t für ESBL-Such- und Bestätigungstests. Die Entscheidung, ob ESBL-Suchtests bei allen Urinisolaten durchgeführt werden, sollte auf laborinterner Basis getroffen werden, wobei Prävalenz-, Therapie- und Infektionskontrollaspekte zu berücksichtigen sind.<sup>7</sup> Für die Untersuchung von *Proteus mirabilis* auf ESBL-Produktion, siehe M100.<sup>7</sup>

**Nicht-Enterobacteriaceae:** Nicht-Enterobacteriaceae außer *P. aeruginosa* und *Acinetobacter* spp., *B. cepacia* und *S. maltophilia* sollten mit der Verdünnungsmethode getestet werden (siehe M71<sup>9</sup>). Für *B. cepacia* und *S. maltophilia* sind die Interpretationsstandards für die Hemmzonendurchmesser und für die Qualitätskontrolle in CLSI M100-S21 zu finden.

*P. aeruginosa* kann bei längerer Therapie gegen alle Antibiotika resistent werden. Isolate, die anfangs empfindlich sind, können innerhalb von 3 bis 4 Tagen nach Therapiebeginn resistent werden. Die wiederholte Untersuchung von Isolaten kann notwendig werden.<sup>7</sup>

Die Empfindlichkeit von *Pseudomonas aeruginosa*, die bei Patienten mit zystischer Fibrose isoliert wurden, lässt sich durch die Blättchenmethode zuverlässig ermitteln, kann aber eine verlängerte Inkubationszeit von bis zu 24 h erfordern, bevor das Ergebnis als empfindlich angegeben werden kann.<sup>7</sup>

**Staphylococcus spp.:** *Staphylococcus* spp. können während einer längeren Therapie mit Chinolonen resistent werden. Deshalb können anfangs empfindliche Isolate innerhalb von 3 bis 4 Tagen nach Therapiebeginn resistent werden. Wiederholte Isolate-Tests müssen ggf. durchgeführt werden.<sup>7</sup>

Zu den Methoden für den Nachweis von methicillinresistenten Staphylokokken gehören der Oxacillin- und der Cefoxitin-Blättchentest, Tests auf *meCA* oder das durch *meC* kodierte Protein sowie Tests auf das Penicillin bindende Protein 2a (PBP 2a, auch als PBP 2 bekannt). In der Vergangenheit gab das Vorhandensein von Resistenz gegenüber anderen Substanzklassen auch einen Hinweis auf Resistenz gegen Methicillin (Oxacillin). Allerdings sind manche methicillinresistente Stämme von *S. aureus* (MRSA), wie beispielsweise diejenigen Stämme, die bei in einer Gemeinschaft auftretenden Infektionen, gefunden werden, nicht multiresistent.<sup>6</sup>

MRSA und methicillinresistente, Koagulase-negative Staphylokokken sollten als resistent gegen alle Penicilline, Carbaopeneme, Cepheme und Kombinationen aus β-Lactam/β-Lactamase-Hemmer protokolliert (oder gar nicht berichtet) werden, unabhängig von den mit diesen Substanzen erhaltenen *In-vitro*-Ergebnissen. Der Grund dafür ist, dass die meisten Fälle von dokumentierten Infektionen durch methicillinresistente Staphylokokken nur schlecht auf β-Lactam-Antibiotika angesprochen haben und bisher klinisch überzeugende Daten zur Dokumentation der klinischen Wirksamkeit von β-Lactamen beim Einsatz gegen MRS fehlen. Für oxacillinempfindliche *S. aureus* und Koagulase-negative Staphylokokken müssen die Ergebnisse für parenteral und oral verabreichte Cepheme, Kombinationen aus β-Lactam/β-Lactamase-Hemmer und Carbaopeneme, falls getestet, entsprechend der Ergebnisse, die unter Verwendung der Routineinterpretationskriterien erzielt wurden, berichtet werden. Für oxacillinresistente *S. aureus* und Koagulase-negative Staphylokokken (MRS), scheinen möglicherweise andere β-Lactam-Antibiotika, wie z. B. Penicilline, Kombinationen aus β-Lactam/β-Lactamase-Hemmer, Cepheme und Carbaopeneme *in vitro* auch zu sein, klinisch sind sie allerdings nicht wirksam. Die Ergebnisse für diese Arzneimittel sollten dann mit „resistent“ protokolliert oder gar nicht berichtet werden. Die Ursache hierfür liegt darin, dass die meisten Fälle dokumentierter MRS-Infektionen schlecht auf β-Lactam-Therapie ansprechen bzw. dass bisher noch keine überzeugenden klinischen Daten vorliegen, die die klinische Wirksamkeit dieser Substanzen belegen würden. Eine Routinetestung von Urinisolaten von *S. saprophyticus* wird nicht empfohlen, da Infektionen auf Konzentrationen reagieren, die von den herkömmlicherweise zur Behandlung akuter, unkomplizierter Harnwegsinfektionen verwendeten Antibiotika (z. B. Nitrofurantoin, Trimethoprim/Sulfamethoxazol oder Fluorchinolon) im Urin erzielt werden.<sup>6,7</sup>

Für Informationen zur Vorausage von *meCA*-vermittelter Resistenz in *Staphylococcus* spp. beim Einsatz von Cefoxitin (30 µg), siehe CLSI M100-S21.

Für Informationen zur Testung von *Staphylococcus* spp. auf induzierbare Clindamycin-Resistenz siehe auch M100-S21.

**Enterococcus spp.:** Aufgrund der Bildung von Penicillin bindenden Proteinen (PBP) mit niedriger Affinität oder der Bildung von β-Lactamase können Enterokokken resistent gegen Penicillin und Ampicillin sein. Mit dem Blättchen-Diffusionstest können Isolate mit abweichenden Penicillin bindenden Proteinen genau, aber β-Lactamase produzierende Stämme nur unzuverlässig nachgewiesen werden. Die letzteren Stämme werden am besten mit einem direkten β-Lactamase-Test nachgewiesen,<sup>6</sup> z. B. mit **Cefinase** Nitrocefïn-Testblättchen oder mit chromogenen Cephalosporin-Testblättchen.

Für *Enterococcus* spp. können Cephalosporine, Aminoglykoside (außer für hochgradige Resistenz-Reihentests), Clindamycin und Trimethoprim/Sulfamethoxazol *in vitro* aktiv erscheinen, sind aber klinisch nicht wirksam und Isolate sollten nicht als empfindlich dokumentiert werden.

**Haemophilus spp.:** Nur die Testergebnisse mit Ampicillin, einem Cephalosporin der dritten Generation, Chloramphenicol und Meropenem sollten routinemäßig für Isolate von *H. influenzae* aus Zerebrospinalflüssigkeit protokolliert werden.

Amoxicillin/Clavulansäure, Azithromycin, Clarithromycin, Cefaclor, Cefprozol, Loracarbef, Cefdinir, Cefixim, Cefepodoxim und Cefuroxim-Axetil sowie Telithromycin sind orale Arzneimittel, die empirisch gegen *Haemophilus* spp. zur Therapie von Atemwegsinfektionen eingesetzt werden können. Die Ergebnisse der Empfindlichkeitstests mit diesen Antibiotika sind oft von geringem Nutzen zur Therapie individueller Patienten. Die Überprüfung der Empfindlichkeit von *Haemophilus* spp. für diese Substanzen kann jedoch bei Übersichtsstudien oder epidemiologischen Studien angebracht sein.

**Streptococcus spp. außer S. pneumoniae:** Von der U.S. Food and Drug Administration zugelassene Empfindlichkeitstests mit Penicillinen und anderen β-Lactam-Antibiotika für die Behandlung von *S. pyogenes* und *S. agalactiae* sind für klinische Zwecke nicht erforderlich und müssen nicht routinemäßig durchgeführt werden, da wie bei Vancomycin resistente Stämme nicht bekannt sind. Für pharmazeutische Entwicklungen, epidemiologische Zwecke oder zur Überwachung auf sich entwickelnde Resistenzen werden Interpretationskriterien zur Verfügung gestellt. Ein als intermediär oder resistent bewerteter Stamm sollte zur Bestätigung an ein Referenzlabor weitergegeben werden.

Für Informationen zur Testung von β-hämolytischen Streptokokken auf induzierbare Clindamycin-Resistenz siehe M100-S21.<sup>7</sup>

**VERFAHRENSBESCHRÄNKUNGEN**

Vergrößerung des Cefotaxim-Hemmzonendurchmessers um ≥ 3 mm und des Ceftazidim-Hemmzonendurchmessers um ≥ 5 mm bewirkt. Siehe “Verfahrensbeschränkungen”. Einzelheiten des Verfahrens werden in Literaturangabe 7 beschrieben.

- Cephalothin kann dazu verwendet werden, um Aktivität von Cephalotin, Cephapirin, Cephradin, Cephalixin, Cefalor e Cefadroxil vorherzusagen. Cefazolin, Cefuroxim, Cefepodoxim, Cefprozol e Loracarbef (nur für Urin-Isolate) possono individuell getestet werden, da manche isolate gegen diese Agenzien empfindlich sein könnten, wenn sie gegen Cephalotin resistent sind.

- v Nicht anwendbar zur Prüfung von *Morganella* spp.

- w Für *N. gonorrhoeae* zeigt ein intermediares Ergebnis für einen antimikrobiellen Wirkstoff das Vorliegen eines technischen Problems an, das durch wiederholte Testen zu korrigieren ist, oder das Fehlen der klinischen Erfahrung bei der Behandlung von Organismen mit diesen Zonen. Das Letztere scheint bei Cefmetazol, Cefotetan, Cefoxitin und Spectinomycin vorzuliegen. Stämme mit intermediären Zonen gegen die anderen Wirkstoffe weisen eine dokumentierte, niedrigere klinische Heilungsquote (85 – 95 %) als empfindliche Stämme (>95 %) auf.

- x Cefotaxim, Cefizoxim oder Ceftriaxon sollten bei ZSF-Isolaten anstelle von Cephalothin und Cefazolin getestet und angegeben werden.

- y Da berichtet wurde, dass bestimmte Stämme von *Providencia* spp. mit Cefprozol-Testblättchen falsch-empfindliche Ergebnisse liefern, sollten Stämme dieses Genus mit diesem Blättchen nicht getestet und berichtet werden.

- z Nur für Urin-Isolate angezeigt. Außer zum Testen von Urinisolaten kann Nalidixinsäure bei Isolaten von Patienten mit extraintestinalen Infektionen mit *Salmonella* zum Testen auf reduzierte Fluorchinolon-Empfindlichkeit eingesetzt werden. Siehe Fußnote ddd.

- aa Von der FDA zugelassene Hemmzonendurchmesser für Interpretations- und/oder Qualitätskontrollkriterien, die sich von den aktuellen CLSI-Empfehlungen unterscheiden

- bb Für *V. cholerae* vorsichtig benutzen, da der Blättchen-Diffusionstest viele Organismen falsch klassifizieren könnte (höhere Fehlerrate).
  - z Zur Unterstützung einer Prüfung dieses Arzneimittels mit *Streptococcus pneumoniae* wurden noch keine Kriterien festgelegt. Der Kontrollbereich wird ausschließlich für Qualitätskontrollzwecke angegeben.

- dd Colistin und Polymyxin B diffundieren schlecht in Agar und die Genauigkeit der Diffusionsmethode ist deshalb geringer als bei anderen Antibiotika. Resistenz ist immer signifikant, aber bei der Behandlung von systemischen Infektionen aufgrund empfindlicherer Stämme ist es angeraten, die Ergebnisse eines Diffusionstests mit einem Verdünnungstest zu bestätigen.

- ee Organismen, die gegenüber Tetracyclin empfindlich sind, werden ebenfalls als empfindlich gegenüber Doxycyclin und Minocyclin angesehen. Einige Organismen, die intermediär oder resistent gegen Tetracyclin sind, können jedoch empfindlich gegenüber Doxycylin oder Minocyclin bzw. beide Antibiotika sein.

- ff Von der FDA für *S. saprophyticus* und *S. epidermidis* (nicht *S. aureus*) zugelassen.

- gg Für Kontrollregenzen der Blättchen mit 120 µg Gentamicin und 300 µg Streptomycin ist *E. faecalis* ATCC 29212 zu verwenden (Gentamicin: 16 – 23<sup>9</sup> mm; Streptomycin: 14 – 20<sup>9</sup> mm).

- hh Wenn die Hemmzone 7 – 9 mm groß ist, ist der Test ergebnislos und ein Agarverdünnungstest oder ein Bouillon-Mikroverdünnungstest ist durchzuführen, um die Resistenz zu bestätigen.

- ii Vom CLSI empfohlene Hemmzonengrößen, die sich von den FDA zugelassenen Empfehlungen für Hemmzonengrößen unterscheiden.
- jj Es konnten keine Kriterien festgelegt werden, die das Testen dieses Wirkstoffes mit *H. influenzae* unterstützen. Der Kontrollbereich ist nur zu Zwecken der Qualitätskontrolle aufgeführt.

- kk Da berichtet wurde, dass bestimmte Stämme von *Citrobacter*, *Providencia* und *Enterobacter* spp. mit Cefdinir- und Loracarbef-Testblättchen falsch-empfindliche Ergebnisse liefern, sollten Stämme dieser Genera mit diesen Blättchen nicht getestet und berichtet werden.

- ll Von der FDA für *K. pneumoniae* zugelassen.

- mm Zur Unterstützung einer Prüfung dieses Arzneimittels mit *Pseudomonas aeruginosa* wurden noch keine Kriterien festgelegt. Der Kontrollbereich wird ausschließlich für Qualitätskontrollzwecke angegeben.

- nn Wenn ein penicillinasestabiles Penicillin getestet wird, ist Oxacillin das bevorzugte Agens. Diese Ergebnisse können auch auf die anderen penicillinasestablen Penicilline, Cloxacillin, Dicloxacilin, Flucloxacilin, Methicillin und Naficillin angewandt werden. Oxacillin wird bevorzugt, da es lagerungsstabiler ist und mit höherer Wahrscheinlichkeit heteroresistente Staphylokokken-Stämme detektiert. Cloxacilin-Testblättchen sollten nicht verwendet werden, da sie unter Umständen keinen Nachweis für oxacillinresistenten *S. aureus* erbringen. Anstelle von Cefoxitin kann Oxacillin getestet werden (siehe M100-S21). Nach einer Inkubationszeit von 24 h das leichte Wachstum innerhalb der Hemmzone des Oxacillin-Blättchens mit durchscheinendem Licht untersuchen (Platte gegen das Licht halten). Wachstum innerhalb der Hemmzone ist ein Anzeichen für Oxacillin-Resistenz.

- oo Werden mit Oxacillin intermediaire Ergebnisse für *S. aureus* erhalten, einen Test auf *mecA* oder *PBP 2a*, den Cefoxitin-Blättchentest, einen Oxacillin-MHK-Test oder den Suchtest mit Oxacillin-Salzagar durchführen. Das Ergebnis des alternativen Tests berichten und nicht das intermediaire Ergebnis.

- pp Penicillinresistente, oxacillinempfindliche Stämme von *Staphylococcus aureus* produzieren β-Lactamase und es wird empfohlen, das 10-Einheiten-Penicillin-Blättchen statt dem Ampicillin-Blättchen zu testen. Penicillin sollte zur Empfindlichkeitsprüfung aller β-Lactamase-labiler Penicilline, wie z. B. Ampicillin, Amoxicillin, Azlocillin, Carbenicillin, Mezlocillin, Piperacillin und Ticarcillin, verwendet werden. Ähnlich lässt sich mit einer positiven β-Lactamase-Test-Eine Resistenz gegenüber diesen Agenzien vorhersagen.<sup>6</sup> Oxacillinresistente Staphylokokken sollten als resistent oder gar nicht berichtet werden.

- qq Ein positiver β-Lactamase-Test sagt Resistenz gegen Penicillin, Ampicillin und Amoxicillin vorher. Ein β-Lactamase-Test weist eine Form der Penicillinresistenz in *N. gonorrhoeae* nach und kann auch eingesetzt werden, um epidemiologische Informationen zu erhalten. Stämme mit chromosomvermittelter Resistenz können nur durch zusätzliche Empfindlichkeitstests wie z. B. die Blättchen-Diffusionsmethode oder Agarverdünnung-MHK-Methode nachgewiesen werden. Gonokokken, bei denen sich mit 10-Einheiten-Penicillin-Blättchen, Hemmzonendurchmesser von ≤ 19 mm ergeben, sind wahrscheinlich β-Lactamase-produzierende Stämme. Zur schnellen, genauen Erkennung dieser plasmidvermittelten Penicillinresistenz ist der β-Lactamase-Test jedoch anderen Empfindlichkeitstüberprüfungen überlegen.

- rr Empfindlichkeitstests mit *S. pyogenes* gegen Penicillin sind selten notwendig, da dieser Mikroorganismus allgemein penicillinempfindlich ist. Manche Stämme von *S. agalactiae* zeigen jedoch penicillinintermediaire Ergebnisse auf.<sup>7</sup>

- ss Tigeicyclin hat in der *In-vitro*-Aktivität gegen *Morganella* spp., *Proteus* spp. und *Providencia* spp. abgenommen.

- tt Das Sulfisoxazol-Testblättchen kann für alle derzeitige erhältlichen Sulfonamide verwendet werden. Medien, die Blut enthalten (außer lysiertem Pferdesblut), sind normalerweise zur Prüfung von Sulfonamiden und Trimethoprim nicht geeignet. Zur Prüfung von Sulfonamiden und/oder Trimethoprim sollte der Mueller-Hinton-Agar so weit wie möglich frei sein von Thymidin. Um zu bestimmen, ob die Konzentrationen von Thymin und Thymidin im Mueller-Hinton-Agar gering genug sind, kann *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 oder ATCC 33186 mit dem Trimethoprim-Sulfamethoxazol-Testblättchen getestet werden (siehe Literaturangabe 13). Eine Hemmzone von ≥ 20 mm, die im Wesentlichen frei ist von feinen Kolonien, zeigt an, dass hinreichend geringe Konzentrationen von Thymin und Thymidin vorliegen.<sup>6</sup>

- uu Gonokokken mit 30-µg-Tetracyclin-Blättchenzonendurchmessern von ≤ 19 mm zeigen üblicherweise Isolate von *N. gonorrhoeae* mit plasmidvermittelter Tetracyclinresistenz (TRNG) an. Diese Stämme sollten durch einen Verdünnungstest (MHK ≥ 16 µg/ml) bestätigt und/oder an ein Labor der Gesundheitsbehörde zur epidemiologischen Untersuchung geschickt werden.

- vv Alle Staphylokokken-Isolate, die mit Vancomycin einen Hemmzonendurchmesser von 14 mm oder weniger aufweisen, sollten mit einer MHK-Methode nachgeprüft werden. Der Blättchen diffusionstest unterscheidet nicht zwischen Stämmen mit reduzierter Vancomycin-Empfindlichkeit (MHK 4 bis 8 µg/ml) und empfindlichen Stämmen (MHK 0,5 bis 2 µg/ml), selbst nicht bei einer Inkubationszeit von 24 h. Zudem produzieren vancomycinresistente Stämme von *S. aureus* (VRSA) (MHK ≥ 16 µg/ml) möglicherweise nur ein geringes Wachstum um ein Vancomycin-Blättchen herum. Der Suchtest für Vancomycinagar, dar für Enterokokken (Hirn- Herz-Infusion-Agar mit 6 µg/ml Vancomycin) beschrieben ist, kann dazu benutzt werden, um die Nachweisempfindlichkeit für vancomycinintermediäre und vancomycinresistente Stämme von *S. aureus* zu erhöhen, indem die Platte für einen Zeitraum von 24 h bei 35 °C inkubiert wird.<sup>6</sup> Die Verwendung eines empfindlichen Qualitätskontrollstamms, wie beispielsweise *E. faecalis* ATCC 29212 ist wichtig, um die Spezifität zu gewährleisten. *E. faecalis* ATCC 51299 ist als eine positive (d. h. resistente) Kontrolle verwendbar. Solange keine weiteren Daten zur Prävalenz oder klinischen Signifikanz dieser Isolate vorliegen, sollte das Labor eine besonders sorgfältige Untersuchung der MRSA-Stämme hinsichtlich erhöhter MHK bei Vancomycin in Betracht ziehen.<sup>6</sup> Gegenwärtig stehen nicht ausreichend Daten zur Verfügung, um den Einsatz dieses Agarsuchtests für Koagulase-negative Staphylokokken zu empfehlen. Alle Staphylokokken, für die mit Vancomycin eine erhöhte MHK (≥ 4 µg/ml) bestimmt wurde, sollten an ein Referenzlabor gesendet werden.

- vwv Bei der Prüfung von Vancomycin gegen Enterokokken sollten die Platten für 24 h aufbewahrt und im Transmissionslicht untersucht werden; die Anwesenheit eines Schleiers oder jede Art von Wachstum innerhalb der Hemmzone zeigt Resistenz an Organismen mit intermediären Hemmzonen sollten mit einer im CLSI-Dokument M7 beschriebenen MHK-Methode geprüft werden. Siehe auch den in der MHK-Tabelle 2D (M100-S21) beschriebenen Vancomycinagar-Suchtest.<sup>9</sup>

- xx Bisher wurde kein Stamm von *S. pneumoniae* mit einem Vancomycin-Hemmzonendurchmesser von <17 mm beobachtet. Solche Stämme sind an ein Referenzlabor zu schicken.<sup>7</sup>

- yy Aufgrund begrenzter Alternativen können Chloramphenicol, Erythromycin, Tetracyclin (bzw. Doxycyclin oder Minocyclin) und Rifampin für vancomycinresistente Enterokokken (VRE) verwendet werden; Konsultation mit einem Facharzt für Infektionskrankheiten wird empfohlen.<sup>7</sup>

- zz Es konnten keine Kriterien festgelegt werden, die das Testen dieses Wirkstoffis mit *N. gonorrhoeae* unterstützen. Der Kontrollbereich ist nur zu Zwecken der Qualitätskontrolle aufgeführt.

- aaa Stämme β-hämolytischer Streptokokken mit Ampicillin-, Cefepim-, Cefotaxim-, Ceftriaxon- oder Penicillin-Hemmzonendurchmessern von weniger als 24 mm sind noch nicht beobachtet worden; solche Stämme sollten an ein Referenzlabor eingesendet werden.

- bbb Oxacillin-Blättchen lassen sich am besten mit *S. aureus* ATCC 25923 auf einen möglichen Verderb hin überprüfen; der akzeptable Hemmzonendurchmesser beträgt 18 – 24 mm.

- ccc Für Ampicillin, Cefepim, Cefotaxim, Ceftriaxon und Penicillin schließt das Ergebnis nur **β-hämolytische Streptokokken mit ein**, zu denen die große Kolonien bildenden pyogenen Streptokokkenstämme mit Gruppe *A*. (*S. pyogenes*), *C*- oder *G*-Antigenen und Stämme mit Gruppe *B*-Antigenen (*S. agalactiae*) gehören. Für Cefepim, Cefotaxim und Ceftriaxon schließt das Ergebnis **Viridans-Streptokokken** mit ein, zu denen die kleine Kolonien bildenden β-hämolytische Stämme mit Gruppe *A*-, *C*-, *F*- oder *G*-Antigenen (*S. anginosus*, vormalis *S. milleri*) sowie *S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. intermedius*, *S. constellatus*, *S. mutans* und *S. bovis* gehören.

- ddd Fluorchinolonempfindliche Stämme von *Salmonella*, die im Test gegen Nalidixinsäure resistent sind, können mit einem Therapieversagen oder einer verzögerten Wirkung bei mit Fluorchinolon behandelten Patienten mit extraintestinaler Salmonellose assoziiert sein. Extraintestinale Isolate von *Salmonella* sollten auch auf Resistenz gegen Nalidixinsäure getestet werden. Bei Isolaten, die empfindlich für Fluorchinolone und resistent gegen Nalidixinsäure testen, sollte der Arzt darüber informiert werden, dass die Isolate möglicherweise mit einer Fluorchinolontherapie nicht eradiert werden können. Konsultation mit einem Facharzt für Infektionskrankheiten wird empfohlen.

- eee Es konnten keine Kriterien festgelegt werden, die das Testen dieses Wirkstoffis mit *S. aureus* unterstützen. Der Kontrollbereich ist nur zu Zwecken der Qualitätskontrolle aufgeführt.

**LITERATURNACHWEIS:** 5. “References” im englischen Text.

## BBL Sensi-Disc Antimicrobial Susceptibility Test Discs (Dischi BBL Sensi-Disc per test di sensibilità agli antibiotici)

Italiano

**USO PREVISTO** – Questi dischi sono usati per il test semi-quantitativo *in vitro* della sensibilità agli antibiotici di comuni batteri patogeni a crescita rapida e di alcune specie esigenti, mediante disco-diffusione in agar. Tali batteri comprendono *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Acinetobacter spp.*, *Enterococcus* spp., *Vibrio cholerae* e - attraverso procedure modificate - *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* e altri streptococchi.
NOTA: per le procedure speciali richieste per testare pneumococchi, enterococchi e stafilococchi meticillino/oxacillino-resistenti, nonché per il test delle β-lattamasi ed eseguire i test di screening e di conferma per ESBL, vedere la sezione “RISULTATI”.

<div> <div><span>Per i criteri di interpretazione del diametro di zona adottati in Francia, vedere le istruzioni riportate nella sezione in lingua francese di questo inserto.</span></div> <div></div> </div>
--

**SOMMARIO E SPIEGAZIONE** – I metodi di diffusione in agar, che impiegano dischi di carta da filtro asciutti e impregnati con concentrazioni specifiche di agenti antibiotici, furono sviluppati negli anni 40 del secolo scorso. Al fine di eliminare o minimizzare la componente di variabilità in questi test, Bauer et al. svilupparono una procedura standardizzata che utilizzava l’agar Mueller Hinton come terreno di coltura.<sup>1,2</sup> Successivamente, varie agenzie di regolamentazione e organizzazioni preposte alla definizione di norme pubblicitarie procedute di riferimento standardizzate basate sul metodo Bauer-Kirby. Le procedure pubblicate dalla U.S. Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup> e dall’Organizazione Mondiale per la Sanità (OMS) furono tra le prime i più largamente accettate.<sup>4,5</sup> Le procedure vennero adottate come consensus standard dal Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, già NCLSS) e sono oggetto di periodici aggiornamenti.<sup>6,7</sup>
Per le raccomandazioni vigenti, consultare la documentazione **CLSI più recente in merito**.

**PRINCIPI DELLA PROCEDURA** – I dischi contenenti un’ampia varietà di agenti antibiotici vengono applicati sulla superficie delle piastre agar Mueller Hinton (o terreno agar *Haemophilus* Test Medium (HTM) per *H. influenzae*, Agar GC con IsoVitalEx Enrichment per *N. gonorrhoeae*, o Agar Mueller Hinton con sangue di montone al 5% per *S. pneumoniae*, streptococchi β-emolitici e del gruppo viridans) inoculate con colture pure di isolati clinici. Dopo l’incubazione, le piastre vengono esaminate e le zone di inibizione intorno ai dischi misurate e comparate a fronte di intervalli di riferimento predefiniti per ciascun antibiotico al fine di determinare gli agenti più adatti alla terapia antibiotica.

**REAGENTI** – I **Sensi-Disc** sono dischi del diametro di 6 mm, preparati impregnando carta assorbente di alta qualità con quantitativi accuratamente determinati di antibiotici o di altri agenti chemioterapici. I dischi sono contrassegnati in modo ben visibile su entrambi i lati da lettere e numeri indicanti l’agente e la rispettiva concentrazione (vedere la tabella che riporta le concentrazioni di ingredienti reattivi). L’antibiotico contenuto nei dischi viene testato con le metodiche stabilite dall’FDA o procedure simili o comparabili a quelle pubblicate nel *Federal Register* statunitense.

Gli agenti **Sensi-Disc** vengono forniti in cartucce da 50 dischi ciascuna. L’ultimo disco di ogni cartuccia è contrassegnato con una “X” e contiene il farmaco indicato dal codice. Le cartucce vanno utilizzate nei dispensatori **BBL Sensi-Disc**, disponibili in vari modelli: dispensatore a disco singolo, dispenser e da 8 posti per piastre Petri da 100 mm, dispensatore auto-applicatore da 6 od 8 posti per piastre da 100 mm e dispensatore auto-applicatore da 12 posti per piastre da 150 mm.

**Avvertenze e precauzioni:** Per uso diagnostico *in vitro*.

Seguire le istruzioni per l’uso; le prestazioni dei dischi non dipendono solo dalla loro potenza specifica, ma anche dall’uso di inoculo e colture di controllo appropriati, da piastre pre-testate funzionali, da una temperatura di conservazione idonea e da altri fattori.

Durante tutte le procedure, attenersi alle tecniche asettiche e alle precauzioni stabilite contro i rischi microbiologici. Dopo l’uso, sterilizzare le colture, i contenitori e i materiali contaminati.

**Modalità di conservazione:**

1. Una volta ricevuti, i dischi devono essere conservati a una temperatura compresa tra -20 e +8 °C. Se il frigorifero del laboratorio viene aperto e chiuso di frequente e **non** si riesce a mantenere una temperatura idonea, conservarli soltanto una quantità di dischi sufficiente per una settimana. Alcuni dischi (es. β-lattamici) devono preferibilmente essere conservati in freezer a -20 °C.

2. Prima dell’apertura, attendere che i contenitori raggiungano la temperatura ambiente. Una volta completata l’applicazione dei dischi, rimettere in frigorifero quelli non utilizzati. Una volta aperti, i dischi devono essere conservati in un contenitore esposto accuratamente sigillato.

3. Usare prima i dischi più vecchi.

4. Eliminare i dischi scartati. Gettare anche le cartucce i cui dischi siano stati rimossi frequentemente nell’arco di una settimana e i dischi non conservati in frigorifero nel laboratorio durante la notte. In alternativa, testare i dischi per verificare che assicurino prestazioni accettabili prima di continuare ad usarli.

5. Se i dischi sviluppano zone di inibizione non corrette con i controlli raccomandati, verificare l’intera procedura; le errate dimensioni della zona possono essere attribuite al disco, all’inoculo, alla preparazione o allo spessore (ca. 4 mm) del terreno di coltura o ad altri fattori. La data di scadenza vale solo per i dischi conservati in contenitori integri secondo le istruzioni.

**CAMPIONI** – Normalmente i campioni non devono essere impiegati direttamente in questo test. Vedere le Istruzioni che illustrano la procedura di preparazione dell’inoculo. Se possibile, preparare le colture da campioni prelevati da pazienti prima dell’inizio della terapia antibiotica.
**PROCEDURA**
**Materiale fornito:** Dischi **Sensi-Disc** qualificati per il test di sensibilità.
**Materiali necessari ma non forniti** – Terreni di coltura ausiliari, reagenti, microrganismi per controllo di qualità e apparecchiature di laboratorio necessarie per eseguire il test di sensibilità mediante disco-diffusione con la procedura standardizzata. Preparare uno standard di torbidità McFarland 0,5 aggiungendo 0,5 ml di 0,048 M BaCl₂·1,175% (peso/vol) CaCl₂·2H₂O a 99,5 ml di 0,18 M [0,36N] H₂SO₄ [1% (vol/vol)]. Per la verifica usare uno spettrofotometro con percorso ottico di 1 cm e cuvetta corrispondente; l’assorbanza a 625 nm deve essere pari a 0,08 – 0,13.

**Istruzioni, inclusi i controlli da parte dell’utente<sup>8</sup>**

1. Preparazione dell’inoculo con colture per il test e il controllo

- a. Allestire un vetrino colorato con Gram. Utilizzare soltanto colture pure.

- b. Selezionare da tre a cinque colonie simili e trasferirle con ago o ansa da inoculo in 4 – 5 ml di brodo adatto, come per esempio **Trypticase Soy Broth** (o brodo Mueller Hinton per microrganismi esigenti).

- c. Incubare le colture del brodo a 35 °C per 2 – 6 h, se necessario, fino a sviluppare una torbidità equivalente allo standard McFarland 0,5 (circa 1 a 2 x 10<sup>8</sup> UFC/ml). In alternativa, preparare una sospensione diretta di brodo o di soluzione fisiologica con colonie selezionate da una piastra agar incubata durante la notte (per *H. influenzae* e *N. gonorrhoeae* usare un terreno di coltura non selettivo come agar sangue o agar choccolato). La metodica di sospensione diretta delle colonie è da preferire per *Staphylococcus* spp., *S. pneumoniae* e altri streptococchi, *Haemophilus* spp. e *N. gonorrhoeae*.<sup>8</sup>

- d. Diluire, se necessario, per ottenere una torbidità equivalente allo standard 0,5 di McFarland. Per diluire, usare brodo o soluzione fisiologica sterile. In alternativa, standardizzare l’inoculo mediante fotometria; per facilitare la regolazione dell’inoculo con i microrganismi a crescita rapida, si può utilizzare il sistema di inoculo **Prompt** (dispositivo di preparazione volumetrica dell’inoculo).<sup>8</sup>

Non usare come inoculo le brodocolture incubate durante la notte.

2. Inoculo

- a. Entro 15 min, immergere un tampone di cotone sterile nell’inoculo correttamente diluito ed eliminare il liquido in eccesso facendo ruotare il tampone e prendendolo parecchie volte con la parte superiore della parete interna della provetta.

- b. Seminare l’intera superficie di una piastra agar Mueller Hinton (o altro agar appropriato) per tre volte, girando ogni volta la piastra di 60° per ottenere un’inoculo uniforme.

- c. Si può lasciare il coperchio soiccioso per 3 – 5 min, ma non più di 15 min, per permettere l’assorbimento di eventuale umidità dalla superficie, prima di applicare i dischi impregnati di antibiotico.

3. Selezionare i dischi appropriati (vedere nota bibliografica 7, Tabelle 1A e 1B di M100 [M2]).

4. Applicare i dischi con l’ausilio di un dispensatore **BBL**, adottando tecniche asettiche. Depositare i dischetti in modo che la distanza tra i rispettivi centri sia di almeno 24 mm. I dischi di penicillina e di cefalosporina devono essere preferibilmente depositati a una distanza di almeno 10 mm dal bordo della piastra Petri, assicurandosi che i rispettivi centri distino almeno 30 mm l’uno dall’altro. Evitare di disporre i dischi uno adiacente all’altro. Con *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* e *S. pneumoniae*, non usare più di nove dischi per piastra da 150 mm o più di quattro dischi per piastra da 100 mm. Se i dischi sono stati depositati sull’agar senza dispensatore auto-applicatore, premere su di essi con un ago o pinzette sterili in modo da porli a contatto con la superficie della piastra.

5. Entro 15 min porre le piastre in un incubatore a 35 ± 2 °C, con il lato dell’agar rivolto verso l’alto (per *Staphylococcus* spp., il test a temperature al di sopra di 35 °C può non rilevare gli stafilococchi meticillino-resistenti (MRS); per *N. gonorrhoeae*, incubare a 36 ± 1 °C [non eccedere 37 °C]). *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* e altri streptococchi devono essere incubati in un’atmosfera arricchita con CO₂ al 5%.

6. Esaminare le piastre dopo 16 – 18 h di incubazione (20 – 24 h per *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* e altri streptococchi). Si raccomanda un’incubazione di 24 h completo al fine di rilevare ceppi resistenti a meticillina/naficillina/oxacillina/vancomicina in caso di *Staphylococcus* spp. e a vancomicina in caso di *Enterococcus* spp. I diametri delle zone di inibizione completa vengono misurati mediante controllo visivo macroscopico. La misurazione delle zone viene arrotondata al millimetro. Per ulteriori dettagli sulla misurazione delle zone di inibizione, consultare la bibliografia<sup>8</sup>. La sola crescita di colonie isolate indica che l’inoculo è troppo leggero; in tal caso, il test deve essere ripetuto. Le zone intorno a dischi contenenti antibiotici differenti non sono rapportabili ai fini della comparazione dell’attività degli antibiotici in questione. Per i valori attesi da test di aerobi comuni, vedere la tabella di interpretazione del diametro delle zone. La misurazione delle zone può essere facilitata dall’uso del set di interpretazione **BBL Sensi-Disc**.

7. Incubare test di controllo - li utilizzino le colture prescritte - ogni giorno in cui si eseguono test di sensibilità, oppure una volta alla settimana nel caso in cui si possano documentare performance soddisfacenti in conformità alle norme CLSI.<sup>6</sup> Le dimensioni tipiche delle zone di *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *H. influenzae* ATCC 49247, *H. influenzae* ATCC 49766, *N. gonorrhoeae* ATCC 49226, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *E. coli* ATCC 35218 (ceppo produttore di β-lattamasi), *E. faecalis* ATCC 29212 (per il controllo di qualità dei dischi di gentamicina 120 µg e streptomicina 300 µg) e *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (per i test di screening e conferma delle ESBL) sono riportate in tabella (o nelle note a piè di pagina). Tali valori indicano la corretta performance della procedura nel suo complesso. *E. faecalis* ATCC 29212 (o 33186) è raccomandato anche per valutare se i nuovi lotti di agar Mueller Hinton presentino un contenuto basso di timina e timidina (v. nota a piè di pagina t). *H. influenzae* ATCC 10211 è raccomandato come ceppo utile per un controllo di qualità supplementare al fine di verificare le proprietà di stimolazione della crescita dell’agar per test *Haemophilus*.<sup>7</sup>

**RISULTATI**<sup>6,7</sup> – NOTA: I criteri di interpretazione raccomandati si basano sui regimi di dosaggio e le vie di somministrazione prevalenti negli Stati Uniti.

Ad iniziare nel 2006, il CLSI ha stabilito gli intervalli di interpretazione del diametro delle zone per *Neisseria meningitidis*, *Burkholderia cepacia* e *Stenotrophomonas maltophilia*. Per questi intervalli, consultare il CLSI M100-S21 o l’ultimo supplemento M100 disponibile. Si può inoltre consultare la linea guida M45 del CLSI – *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria* – per ottenere informazioni sui test di una varietà di organismi compresi *Campylobacter*, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., etc.<sup>9</sup> Per organismi non compresi nella tabella allegata o nella bibliografia citata, non esistono ancora studi adeguati per lo sviluppo di standard definiti riproducibili ai fini dell’interpretazione dei risultati. Se necessario, il metodo di test più appropriato è di norma quello di diluizione, che può richiedere l’invio del microrganismo a un laboratorio di riferimento.

In alcuni casi, il CLSI ha definito nuovi intervalli di diametro di zona per i criteri di interpretazione e del controllo di qualità. In tali casi, è stata aggiunta la nota a piè di pagina “aa” ad indicare che i diametri di zona approvati dall’FDA differiscono dalle attuali linee guida del CLSI. Confrontare il diametro delle zone rilevate con quello della tabella; per ogni microrganismo specifico si possono ottenere risultati refertabili come Resistente, Intermedio o Sensibile. Per certe combinazioni microrganismo-antibiotico, l’assenza di a rarità di ceppi resistenti preclude la possibilità di definire categorie di risultati diversi da “Sensibile”. Per i ceppi che danno un possibile risultato nella categoria “non sensibile”, i risultati dei test di identificazione dell’organismo e di sensibilità antimicrobica vanno confermati. Gli isolati devono essere successivamente conservati e inviati a un laboratorio di riferimento che confermi i risultati utilizzando un metodo di riferimento CLSI mediante diluizione.<sup>6</sup> Un test rapido della β-lattamasi (es. usando i dischi **Cefinase**) può offrire informazioni clinicamente rilevanti prima che siano disponibili i risultati del test di disco-diffusione con *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae* e *Moraxella catarrhalis*; è questo l’unico test affidabile ai fini della rilevazione di *Enterococcus* spp. produttori di β-lattamasi. Un test β-lattamasi positivo è predittivo di resistenza a penicillina, ampicillina e amoxicillina tra *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae* e *M. catarrhalis* e di resistenza a penicillina, comprese le amino-, carbossi- e ureido-penicilline, tra gli stafilococchi e gli enterococchi. Un test β-lattamasi negativo non esclude tuttavia la possibilità di resistenza dovuta ad altri meccanismi. Non testare membri di *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. e altri bacilli aerobi gram-negativi, in quanto i risultati possono non essere predittivi di sensibilità ai β-lattamici più comunemente usati per la terapia clinica. La rilevazione accurata di β-lattamasi negli stafilococchi può richiedere l’incubazione dell’inoculo in un’incubazione fino a 1 h di un test a base di nitrocefina. L’induzione può essere facilmente ottenuta testando la crescita della zona intorno al bordo del disco di oxacillina. Per garantire risultati accurati, è necessario prestare estrema attenzione e condurre test di controllo positivi e negativi conosciuti contemporaneamente all’esame degli isolati clinici.<sup>6</sup>

**Enterobacteriaceae:** Quando si esegue il test di isolati fecali di *Salmonella* e *Shigella* spp., è necessario refertare di routine solo ampicillina, un chinolone e trimetoprim/sulfametoxazolo. Per isolati extraintestinali di *Salmonella* spp., è inoltre necessario testare e refertare cloramfenicolo e una cefalosporina di terza generazione. Per *Salmonella* e *Shigella* spp., gli aminoglicosidi, le cefalosporine di prima e seconda generazione e le cefamicine possono apparire attivi *in vitro*, ma sono clinicamente inefficaci e non devono essere refertati come sensibili.<sup>7</sup>

*Enterobacter*, *Citrobacter* e *Serratia* possono sviluppare resistenza in caso di terapia protratta con cefalosporine di terza generazione. Isolati inizialmente sensibili possono pertanto sviluppare resistenza entro 3 – 4 giorni all’inizio della terapia. È opportuno testare isolati ripetuti.<sup>7</sup>
Le β-lattamasi a spettro esteso (ESBL) sono enzimi prodotti da bacilli gram-negativi, che vengono generati dalla mutazione in geni per comuni β-lattamasi plasmide-mediate. I ceppi di *Klebsiella* spp. ed *E. coli* che producono ESBL possono essere clinicamente resistenti alla terapia con penicilline, cefalosporine o aztreonam, nonostante l’apparente sensibilità *in vitro* ad alcuni di tali agenti. Alcuni di questi ceppi presentano zone di inibizione al di sotto della popolazione di sensibilità normale ma al di sopra dei breakpoint standard per certe cefalosporine a spettro esteso o aztreonam; tali ceppi possono essere sottoposti a screening per la potenziale produzione di ESBL usando i breakpoint di screening ESBL prima di refertare i risultati per penicilline, cefalosporine a spettro esteso o aztreonam. Altri ceppi possono dare risultati intermedi o resistenti - con breakpoint standard - a uno o più di tali agenti. In tutti i ceppi con ESBL, il diametro della zona per una o più cefalosporine a spettro esteso o aztreonam deve aumentare in presenza di acido clavulamico, come determinato dal test fenotipico di conferma. Per tutti i ceppi produttori di ESBL confermati, i risultati dei test devono essere refertati come resistenti per tutte le penicilline, cefalosporine e aztreonam. Per i test di screening e conferma delle ESBL, vedere la nota a piè di pagina t. La decisione di eseguire test di screening delle ESBL su tutti gli isolati urinari spetta all’istituto e deve tenere conto di prevalenza, terapia e problemi di controllo delle infezioni.<sup>7</sup> Per lo screening di *Proteus mirabilis* per rilevare la produzione di ESBL, vedere M100.<sup>7</sup>

**Non-Enterobacteriaceae:** Le non-*Enterobacteriaceae* diverse da *P. aeruginosa*, *Acinetobacter* spp., *B. cepacia* e *S*

enterococchi isolati da campioni ematici e di líquido cerebrospinal, il laboratorio deve determinare la MIC efectiva per penicillina o ampicillina poiché i ceppi di enterococchi con resistenza normalmente inferiore (MIC di penicillina ≤64 µg/mL e di ampicillina ≤32 µg/mL) devono essere considerati potenzialmente sensibili al sinergismo con aminoglicosidi (in assenza di elevata resistenza ad aminoglicosidi) mentre i ceppi con resistenza più elevata possono essere resistenti a tale sinergismo.<sup>6</sup>

o Per gli enterococchi, il sinergismo tra ampicillina, penicillina o vancomicina e un aminoglicoside può essere predetto con un test di screening con alti livelli di aminoglicosidi (gentamicina e streptomina). Non è necessario testare altri aminoglicosidi in quanto la loro attività contro gli enterococchi non è superiore a quella di gentamicina e streptomina.

p I risultati dei test di sensibilità ad ampicillina devono essere usati come indice predittivo dell'attività dell'amoxicillina. La maggior parte degli isolati di *H. influenzae* resistenti ad ampicillina e amoxicillina producono β-lattamasi di tipo TEM. Nella maggior parte dei casi, un test diretto delle β-lattamasi può pertanto rilevare rapidamente la resistenza ad ampicillina e ad amoxicillina.

q Può essere refertato per *Acinetobacter* spp. resistente ad altri agenti.

r Non refertato di routine su microrganismi isolati dalle vie urinarie.

s La sensibilità e la resistenza ad azitromicina, claritromicina e diritromicina possono essere definite usando eritromicina.

t Vedere la discussione sulle ESBL nella sezione "RISULTATI". Per i test di screening e conferma delle ESBL in *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca* e *E. coli*, vedere la sezione "RISULTATI" e la nota bibliografica 7. I breakpoint di screening (agar Mueller Hinton, procedura standard di disco-diffusione, 35 ± 2° C, aria ambiente, 16 – 18 h) sono: aztreonam (≤27 mm), ceftazidim (≤22 mm), cefotaxime (≤27 mm), cefepodoxime (≤17 mm) e ceftriaxone (≤25 mm). Per il controllo di qualità si raccomandano *E. coli* ATCC 25922 (elencato nella tabella), *K. pneumoniae* ATCC 700603 (aztreonam 9 – 17 mm), ceftazidima (10 – 18 mm), cefotaxime (17 – 25 mm), cefepodoxime (9 – 16 mm) e ceftriaxone (16 – 24 mm).<sup>7</sup> L'uso di più antibiotici per lo screening migliora la sensibilità di rilevazione. Il test fenotipico di conferma richiede l'uso di cefotaxime e ceftazidime, sia che in combinazione con ácido clavulánico. Diámetro de zona ≤ 5 mm per uno degli antibiotici en caso di test in combinación con ácido clavulánico; resultado ≥ 5 mm en caso de test no in combinación + ESBL. Per il controllo di qualità si raccomandano: ceppo negativo *E. coli* ATCC 25922, che produce un aumento < 2 mm del diametro di zona per l'antibiotico testato da solo rispetto a quando viene testato in combinazione con ácido clavulánico; ceppo positivo *K. pneumoniae* ATCC 700603, che produce un aumento ≥ 3 mm del diametro di zona con cefotaxime e un aumento ≥ 5 mm del diametro di zona con ceftazidime. Vedere "Limitazioni della procedura". Per dettagli sulla procedura, vedere la nota bibliografica 7.

u La cefalotina può essere usata anche come indice predittivo dell'attività di cefalotina, cefapirina, cefradina, cefalexina, cefador e cefadroxil. Cefazolina, cefuroxime, cefepodoxime, ceftrozil e loracarbef (solo isolati delle vie urinarie) devono essere testati individualmente perché alcuni isolati possono essere sensibili a questi agenti pur essendo resistenti a cefalotina.

v Non applicabile al test di *Morganella* spp.

w Per *N. gonorrhoeae*, un risultato intermedio con un agente antibiotico indica un problema tecnico da risolvere ripetendo il test oppure la mancanza di esperienza clinica nel trattamento di microrganismi con tali zone. Quest'ultimo sembra essere il caso di cefmetazolo, cefotetan, cefoxitina e spectinomidina. I ceppi che producono zone intermedie con gli altri agenti, hanno un tasso inferiore di guarigione clinica documentata (85 – 95%) rispetto a un tasso di > 95% per i ceppi sensibili.

x I risultati per cefixoxime, ceftizoxime o ceftriaxone devono essere testati e refertati su isolati da liquido cerebrospinal al posto di cefalotina e cefazolina.

y Poiché è stato riportato che alcuni ceppi di *Providencia* spp. danno risultati falsamente sensibili con i dischi di ceftrozil, i ceppi in questione non devono essere testati e referti con tale tipo di disco.

z Indicato solo per isolati urinari. Oltre che per i test di isolati urinari, l'acido nalidissico può essere usato per testare la ridotta sensibilità al fluorocinolone in isolati da pazienti con infezioni extraintestinali da *Salmonella*. Vedere la nota a piè di pagina ddd.

aa Diametri di zona approvati dall'FDA per i criteri di interpretazione e/o controllo di qualità, che differiscono dalle raccomandazioni CLSI.

bb Per *V. cholerae*, usare con cautela poiché il test di disco-diffusione può classificare in modo errato molti microrganismi (tasso più elevato di errore secondario).

cc Non sono stati stabiliti criteri che supportano il test di questo antibiotico con *Streptococcus pneumoniae*. Il range di controllo è elencato esclusivamente ai fini del controllo di qualità.

dd La colistina e la polymixina B si diffondono in modo mediocre in agar e l'accuratezza del metodo di diffusione risulta pertanto inferiore rispetto ad altri antibiotici. La resistenza è sempre significativa, ma quando si considera il trattamento di infezioni sistemiche causate da ceppi sensibili, è opportuno confermare i risultati di un test di diffusione con un metodo di diluizione.

ee I microrganismi tetracicclino-sensibili sono considerati sensibili anche a doxiciclina e minociclina. Alcuni microrganismi intermedi o resistenti a tetracicclina possono tuttavia essere sensibili anche doxiciclina o minociclina o a entrambi.

ff Approvato dall'FDA per *S. saprophyticus* e *S. epidermidis* (non *S. aureus*).

gg Per i limiti per il controllo di qualità dei dischi di gentamicina 120 µg e streptomicina 300 µg, utilizzare *E. faecalis* ATCC 29212 (gentamicina: 16 – 23<sup>mm</sup> mm, streptomicina: 14 – 20<sup>mm</sup> mm).

hh Se la zona è di 7 – 9 mm, il test non è conclusivo ed è necessario eseguire un test di screening per diluizione su agar o microdiluizione in brodo, per confermare la resistenza.

ii Diametri di zona raccomandati da CLSI che differiscono dalle raccomandazioni approvate dall'FDA.

jj Non sono stati stabiliti criteri che supportano il test di questo antibiotico con *H. influenzae*. Il range di controllo è elencato esclusivamente ai fini del controllo di qualità.

kk Poiché certi ceppi di *Citrobacter*, *Providencia* e *Enterobacter* spp. hanno dato risultati falsamente sensibili con i dischi di cefdinir e loracarbef, i ceppi in questione non devono essere testati e refertati con tale tipo di dischi.

ll Approvato dall'FDA per *K. pneumoniae*.

mm Non sono stati stabiliti criteri che supportano il test di questo antibiotico con *Pseudomonas aeruginosa*. Il range di controllo è elencato esclusivamente ai fini del controllo di qualità.

nn In caso di test di una penicillina penicillinasi-stabile, l'oxacillina è l'agente preferito e si possono applicare i risultati alle altre penicilline penicillinasi-stabili, cioè cloxacillina, dicloxacillina, flucloxacillina, metacillina e nafcilina. L'oxacillina è preferita in quanto meno soggetta a degradazione durante la conservazione e maggiormente in grado di rilevare ceppi di stafilococchi eteroresistenti. Non usare dischi di cloxacillina poiché è possibile che non riescano a rilevare *S. aureus* oxacillino-resistente. Anziché l'oxacillina, è possibile testare la cefoxitina (cfr. M100-521). Dopo un'incubazione di almeno 24 h, verificare la formazione di una leggera crescita nella zona d'inibizione del disco di oxacillina usando luce trasmessa (esponendo la piastra alla luce). Un'eventuale crescita ravvisabile entro la zona di inibizione è indicativa di resistenza ad oxacillina.

oo Se per *S. aureus* si ottengono risultati intermedi per l'oxacillina, eseguire il test per *mecA* o PBP 2a, il test del disco di cefoxitina, un test MIC dell'oxacillina oppure uno screening su agar sale con oxacillina. Refertare il risultato del test alternativo anziché il risultato intermedio.

pp I ceppi di *Staphylococcus aureus* penicillino-resistenti e oxacillino-sensibili producono β-lattamasi e si preferisce eseguire il test con il disco di penicillina da 10 unità anziché con il disco di ampicillina. La penicillina deve essere usata per testare la sensibilità di tutte le penicilline sensibili a β-lattamasi, come ampicillina, amoxicillina, azlocillina, carbenicillina, mezlocillina, piperacillina e ticarcillina. Analogamente, un test β-lattamasi positivo è predittivo di resistenza a tali agenti.<sup>6</sup> Gli stafilococchi oxacillino-resistenti devono essere refertati come resistenti o non refertati.

qq Un test β-lattamasi positivo è predittivo di resistenza a penicillina, ampicillina e amoxacillina. Il test per le β-lattamasi permette di rilevare una forma di resistenza a penicillina in *N. gonorrhoeae* e può essere usato anche per fornire informazioni epidemiologiche. I ceppi con resistenza cromosomica possono essere rilevati solo mediante test di sensibilità supplementari, come per esempio il metodo di disco-diffusione o il metodo MIC di diluizione in agar. I gonococchi con diametri di zona di ≤ 19 mm attorno ai dischi di penicillina da 10 unità sono verosimilmente ceppi produttori di β-lattamasi. Tuttavia, il test delle β-lattamasi rimane preferibile rispetto ad altri metodi di sensibilità ai fini di un'identificazione rapida e accurata di tale resistenza a penicillina plasmide-mediata.

rr I test di sensibilità a penicillina di *S. pyogenes* sono raramente necessari poiché questo microrganismo continua a essere universalmente penicillino-sensibile. Alcuni ceppi di *S. agalactiae* possono tuttavia dare risultati penicillino-intermedi.<sup>7</sup>

ss La tigeclina ha ridotto l'attività *in vitro* contro *Morganella* spp., *Proteus* spp. e *Providencia* spp.

tt Il disco di sulfisoxazolo può essere utilizzato per rappresentare qualsiasi sulfonamide attualmente in commercio. I terreni contenenti sangue (a eccezione di sangue di cavallo lisato) non sono in genere adatti per testare sulfonamidi o trimetoprim. L'agar Mueller Hinton deve contenere la minore quantità possibile di timidina per testare sulfonamidi e/o trimetoprim. Per determinare se l'agar Mueller Hinton ha livelli sufficientemente bassi di timina e timidina, si possono testare i ceppi di *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 o ATCC 33186 con il disco di trimetoprim-sulfametoxazolo (vedere nota bibliografica 13). Una zona di inibizione di ≥ 20 mm, essenzialmente priva di colonie minute, indica un livello sufficientemente basso di timina e di timidina.<sup>6</sup>

uu I gonococchi con diametri di zona ≤ 19 mm attorno al disco di tetraciclina da 30 µg indicano di solito un isolato di *N. gonorrhoeae* tetracicclino-resistente (TRNG) plasmide-mediato. Questi ceppi devono essere confermati dal test di diluizione (MIC ≥ 16 µg/mL) e/o inviati a un laboratorio di igiene per l'indagine epidemiologica.

vv Tutti gli isolati di stafilococco con diametri di zona di vancomicina pari ad almeno 14 mm devono essere testati con una metodica MIC di riferimento. La procedura di disco-diffusione non distingue tra ceppi con sensibilità ridotta alla vancomicina (MIC da 4 a 8 µg/mL) e ceppi sensibili (MIC da 0,5 a 2 µg/mL) anche in caso di incubazione per 24 h. I ceppi *S. aureus* vancomicino-resistenti (VRSA) (MIC ≥ 16 µg/mL) possono inoltre generare soltanto una crescita lieve intorno a un disco di vancomicina. Il test di screening in agar per vancomicina descritto per gli enterococchi (agar infuso cuore-cervello con 6 µg/mL di vancomicina) può essere usato per ottimizzare la sensibilità di rilevazione di ceppi vancomicino-intermedi e vancomicino-resistenti di *S. aureus* incubando le piastre per 24 h esatte a 35 °C.<sup>8</sup> L'uso di un ceppo di controllo di qualità sensibile, come per esempio *E. faecalis* ATCC 29212, è essenziale per garantire la specificità. *E. faecalis* ATCC 51299 può essere usato come controllo positivo (ossia resistente). Fintantoché non saranno disponibili ulteriori dati sulla prevalenza o la rilevanza clinica di questi isolati, i laboratori possono decidere di sottoporre i ceppi MRSA a esami più accurati ai fini di rilevare MIC elevate di vancomicina. Al momento non vi sono dati sufficienti a raccomandare l'uso di tale test di screening in agar per stafilococchi coagulasi-negativi. Inviare eventuali stafilococchi per cui sia stata accertata una MIC elevata per la vancomicina (≥ 4 µg/mL) a un laboratorio di riferimento.

ww In caso di test di vancomicina contro enterococchi, le piastre devono essere conservate per almeno 24 ore ed esaminate usando luce trasmessa; la presenza di un alone o l'eventuale crescita all'interno della zona d'inibizione indica resistenza. I microrganismi con zone intermedie devono essere testati con un metodo MIC come descritto nel documento CLSI M7. Vedere anche il test di screening in agar per vancomicina descritto nella tabella 2-D delle MIC (M100-S21).<sup>9</sup>

xx Non è stato osservato alcun ceppo di *S. pneumoniae* o altro streptococco con un diametro di zona di una vancomicina <17 mm; inviare tali ceppi a un laboratorio di riferimento.<sup>7</sup>

yy A causa delle limitate alternative, dorafenicollo, eritromicina, tetraciclina (o doxiciclina o minociclina) e rifampicina possono essere utilizzati nel trattamento di enterococchi vancomicino-resistenti (EVR); si raccomanda di consultare anche uno specialista in malattie infettive.<sup>7</sup>

zz Non sono stati stabiliti criteri che supportano il test di questo antibiotico con *N. gonorrhoeae*. Il range di controllo è elencato esclusivamente ai fini del controllo di qualità.

aaa Non sono stati osservati ceppi di streptococchi β-emolitici con zone di ampicillina, cefepime, cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidima di diametro inferiore a 24 mm; tali ceppi devono essere inviati a un laboratorio di riferimento.

bbb Il deterioramento del contenuto del disco di oxacillina viene valutato in modo ottimale mediante *S. aureus* ATCC 25923, con una zona di diametro accettabile pari a 18 – 24 mm.

ccc Per ampicillina, cefepime, cefotaxime, ceftriaxone e penicillina, gli **streptococchi β-emolitici** comprendono **solo** i ceppi piogeni formanti grandi colonie di streptococchi con antigeni di gruppo A (*S. pyogenes*), C o G e ceppi con antigene di gruppo B (*S. agalactiae*). Per cefepime, cefotaxime e ceftriaxone, gli **streptococchi Viridans** comprendono ceppi β-emolitici formanti piccole colonie con antigeni di gruppo A, F o G (*S. anginosus* in precedenza definito *S. milleri*) nonché *S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. intermedius*, *S. constellatus*, *S. mutans* ed *S. bovis*.

ddd I ceppi di *Salmonella* fluorocinolone-sensibili risultati resistenti all'acido nalidissico possono essere associati a unnessuco clinico o risposta ritardata nei pazienti con salmonellosi extraintestinale trattati con fluorocinolone. Testare gli isolati extraintestinali di *Salmonella* anche per la resistenza all'acido nalidissico. Nel caso di isolati risultati sensibili a fluorocinoloni e resistenti ad ácido nalidissico, il medico deve essere informato del fatto che l'isolato potrebbe non essere eliminato dal trattamento con fluorocinoloni. Si raccomanda di consultare uno specialista in malattie infettive.

eee Non sono stati stabiliti criteri che supportano il test di questo antibiotico con *S. aureus*. L'intervallo di controllo è elencato esclusivamente ai fini del controllo di qualità.

**BIBLIOGRAFIA** - Vedere "References" nel testo inglese.

## BD BBL Sensi-Disc Antimicrobial Susceptibility Test Discs (Discos BBL Sensi-Disc para el análisis de sensibilidad antimicrobiana)

Español

**USO PREVISTO:** Estos discos se utilizan para pruebas semicuantitativas de sensibilidad *in vitro* de patógenos bacterianos comunes de crecimiento rápido y de ciertos patógenos bacterianos exigentes, por medio del procedimiento de prueba de difusión de disco. Entre ellos se incluyen *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Vibrio cholerae* y, mediante procedimientos modificados, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* y otros estreptococos.
**NOTA:** Se requieren procedimientos especiales para analizar neumococos, enterococos e estafilococos resistentes a la metilicina/oxacilina, para realizar las pruebas de β-lactamas y para realizar análisis de detección selectiva y confirmación de β-lactamasas de amplio espectro (ESBL); véase la sección "RESULTADOS".

Para conocer los criterios adoptados en Francia para la interpretación del diámetro de las zonas, consulte las instrucciones en la sección en francés de este folleto.

**RESUMEN Y EXPLICACIÓN:** En la década de 1940 se desarrollaron métodos de difusión en agar utilizando discos de papel de filtro seco impregnados de concentraciones específicas de agentes antimicrobianos. Con el fin de eliminar o minimizar la variabilidad de este análisis, Bauer y cols. desarrollaron un procedimiento normalizado para el cual se eligió el agar de Mueller Hinton como medio para el análisis.<sup>1,2</sup> Varias agencias reguladoras y organizaciones normativas publicaron más tarde procedimientos de referencia normalizados basados en el método de Bauer-Kirby. Entre los primeros procedimientos normalizados con mayor aceptación se incluyen los publicados por la U.S. Food and Drug Administration (FDA)<sup>3</sup> y la Organización Mundial de la Salud (WHO).<sup>4,5</sup> Los procedimientos fueron adoptados por el Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, antes NCLIS) como norma de aceptación general y se actualizan periódicamente.<sup>6,7</sup> **Consulte en los documentos del CLSI más recientes las recomendaciones vigentes.**

**PRINCIPIOS DEL PROCEDIMIENTO:** Los discos, que contienen una gran variedad de agentes antimicrobianos, se colocan en la superficie de las placas de agar de Mueller Hinton (o de agar de medio de prueba *Haemophilus* para *H. influenzae*, agar GC II con enriquecimiento IsoVitalEx para *N. gonorrhoeae* o agar de Mueller Hinton con 5% de sangre de carnero para *S. pneumoniae* y para los estreptococos β-hemolíticos y del grupo viridans) que han sido inoculadas con cultivos puros de aislados clínicos. Después de la incubación, se examinan las placas y se miden y comparan las zonas de inhibición que rodean los discos con los límites de tamaño de zona establecidos para agentes antimicrobianos individuales a fin de determinar el agente o agentes más convenientes en la terapia antimicrobiana.

**REACTIVOS:** Los discos Sensi-Disc miden 6 mm y se preparan impregnando papel absorbente de alta calidad con cantidades exactas de antibióticos o de otros agentes antimicrobióticos. Los discos están marcados claramente en ambos lados con letras y números que indican el agente y el contenido del fármaco. (Véase el gráfico que muestra la concentración de los componentes reactivos.) El contenido del fármaco en los discos se determina mediante los métodos establecidos por la FDA o por métodos similares o comparables a los publicados en el *Federal Register* de Estados Unidos.

Los agentes Sensi-Disc se suministran en cartuchos que contienen 50 discos cada uno. El último disco de cada cartucho está marcado con una "X" y contiene el fármaco según su código. Los cartuchos deben ser utilizados en los dispensadores **BBL Sensi-Disc**, que incluyen un dispensador de un solo disco, un dispensador de 8 posiciones para placas de Petri de 100 mm, dispensadores de autoaisonamiento de 6 y 8 posiciones para placas de 100 mm y un dispensador de autoaisonamiento de 12 posiciones para placas de 150 mm.

**Advertencias y precauciones:** Para uso diagnóstico *in vitro*.

Signa las instrucciones de uso; el rendimiento del disco no sólo depende de su eficacia, sino también del uso de inóculos y cultivos de control adecuados, de placas funcionales previamente analizadas y de una temperatura de almacenamiento apropiada, así como de otros factores. Emplear una técnica aséptica y seguir las precauciones habituales contra riesgos microbiológicos durante todos los procedimientos. Esterilice los cultivos, recipientes y otros materiales contaminados después de su uso.

**Instrucciones de almacenamiento:**

1. Al recibir los discos, almacénelos a una temperatura entre -20 °C y +8 °C. Si el refrigerador del laboratorio se abre y cierra con frecuencia y no se mantiene una temperatura adecuada, guarde sólo la cantidad que se va a utilizar en una semana. Algunos discos (por ejemplo, β-lactámicos) deben mantenerse preferiblemente congelados a -20 °C.

2. Deje que los envases alcancen la temperatura ambiente antes de abrirlos. Devuelva al refrigerador los discos que no hayan sido utilizados cuando se haya terminado la aplicación de los mismos. Una vez abiertos, los discos deben colocarse en un contenedor desecado y sellado herméticamente para su almacenamiento.

3. Utilice primero los discos cuya fecha de caducidad sea más próxima.

4. Desecher los discos que ya han caducado. También se deben desechar los cartuchos de los que se han sacado discos con frecuencia durante una semana y los discos que se hayan dejado en el laboratorio fuera del refrigerador toda la noche; de no ser así, se debe averiguar su rendimiento aceptable antes de volver a usarlos.

5. Si los discos forman zonas incorrectas con los organismos de control recomendados, todo el procedimiento debe ser evaluado; el tamaño defectuoso de la zona puede deberse al disco, la inoculación, la preparación o profundidad del medio (alrededor de 4 mm) o a otros factores.

La fecha de caducidad sólo se aplica a los discos almacenados en el envase intacto en la forma indicada.

**MUESTRAS:** Las muestras normalmente no se deben utilizar en esta prueba. Consulte las instrucciones, donde se incluye la preparación del medio. De ser posible, los cultivos deben provenir de las muestras obtenidas de pacientes antes de que se inicie una terapia antimicrobiana.

**PROCEDIMIENTO**

**Material suministrado:** Discos Sensi-Disc para el análisis de las sensibilidades indicadas en las etiquetas.

**Materiales necesarios pero no suministrados:** Medios de cultivo auxiliares, reactivos, organismos de control de calidad y equipos de laboratorio necesarios para realizar la prueba de sensibilidad de difusión en disco según el procedimiento normalizado. Prepare una norma de turbidez McFarland de 0,5, añadiendo 0,5 mL de 0,048 M BaCl<sub>2</sub> [1,175% (peso/vol) CaCl<sub>2</sub>•2H<sub>2</sub>O] a 99,5 mL de 0,18 M [0,36 N] H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (1,5% (vol/vol)). Verifique utilizando un espectrofotómetro con un haz luminoso de 1 cm y la cubeta correspondiente; la absorbencia a 625 nm debe ser de 0,08 – 0,13.

**Instrucciones y controles por parte del usuario:**<sup>6</sup>

1. Preparación del inóculo con cultivos de control y de prueba.

a. Realice una tinción de Gram. Utilizar únicamente cultivos puros.

b. Selección de tres a cinco colonias parecidas y trasládelas con una aguja o asa de inoculación a 4 – 5 mL de caldo adecuado, como caldo de soja *Trypticase* o caldo de Mueller Hinton para microorganismos de crecimiento exigente.

c. Incube los cultivos de caldo a 35 °C durante 2 – 6 h, si es necesario, para desarrollar una turbidez equivalente al patrón de turbidez 0,5 de McFarland (aproximadamente 1 a 2 x 10<sup>8</sup> UFC/mL). También puede preparar una suspensión directa en caldo o solución salina de colonias seleccionadas de una placa de agar que haya sido incubada una noche (se debe utilizar un medio no selectivo para *H. influenzae* y *N. gonorrhoeae*, tal como el agar sangre o el agar chocolate). **Se prefiere el método de suspensión directa de colonias para *Staphylococcus spp.*, *S. pneumoniae* y otros estreptococos, *Haemophilus* spp. y *N. meningitidis*.**<sup>6</sup>

d. Diluya, si es preciso, para obtener una turbidez equivalente a la referencia de turbidez 0,5 de McFarland. Utilice caldo o solución salina estéril como diluyente. Otra opción es normalizar el inóculo fotométricamente; para facilitar el ajuste del inóculo de organismos de crecimiento rápido, puede utilizarse el sistema de inoculación **Prompt** (dispositivo volumétrico para la preparación del inóculo).<sup>8</sup> Los caldos de cultivo preparados el día anterior no se deben utilizar como inóculo.

2. Inoculación.

a. En el plazo de 15 min, sumerja una torunda de algodón estéril en el inóculo ajustado correctamente y gírela varias veces contra la porción superior de la pared interna del tubo para exprimir el exceso de líquido.

b. Siembre tres veces toda la superficie de una placa de agar de Mueller Hinton (u otro agar apropiado) girando la placa a 60° después de cada siembra para obtener una inoculación uniforme.

c. La tapa puede dejarse entreabierta entre 3 – 5 min., pero no más de 15 min., para permitir que se absorba toda la humedad de la superficie antes de que se apliquen los discos impregnados con el fármaco.

3. Selección de los discos apropiados (tales como los recomendados en la referencia bibliográfica 7, Tablas 1A y 1B de M100 [M2]).

4. Aplique los discos mediante un dispensador **BBL**, empleando condiciones asépticas. Depositar los discos de modo que los centros queden a no menos de 24 mm de distancia. Es preferible depositar los discos de penicilina y cefalosporina de manera que no queden a menos de 10 mm del borde de la placa de Petri y sus centros estén a no menos de 30 mm de distancia. Evite colocar este tipo de discos adyacentes. Para *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* y *S. pneumoniae* no utilice más de nueve discos por placa de 150 mm o cuatro discos por placa de 100 mm. Si los discos se han colocado en el agar con dispensadores que no sean de autoaisonamiento, presiónelos contra la superficie con una aguja o una pinza estériles.

5. A los 15 min, coloque las placas de agar boca arriba en una estufa de incubación a 35 ± 2 °C (para *Staphylococcus* spp., el análisis a temperaturas superiores a 35 °C puede no detectar estafilococos resistentes a la metilicina (SRM); para *N. gonorrhoeae*, incube a 36 ± 1 °C [sin superar los 37 °C]). Se deben incubar las *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* y otros estreptococos en una atmósfera enriquecida con CO<sub>2</sub> al 5%.

6. Examine las placas después de un período de incubación de 16 – 18 h (20 – 24 h para *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* y otros estreptococos). Se recomienda incubad durante 24 h *Staphylococcus* spp. para detectar los estafilococos resistentes a la metilicina/nafcilina/oxacilina y *Enterococcus* spp. para detectar resistencias a la vancomicina. Mida el diámetro de las zonas que muestran inhibición total, como puede observarse con la inspección visual macroscópica. Mida las zonas hasta el milímetro más cercano. Para obtener más detalles sobre la medición de zonas de inhibición, consulte la referencia.<sup>6</sup> Si solo crecen colonias aisladas, el inóculo está demasiado diluido y debe repetirse la prueba. Las zonas que rodean los discos que contienen diferentes fármacos no son comparables para cotejar la actividad de los fármacos. Consulte el gráfico de interpretación del diámetro de la zona, el cual da valores previstos del análisis de microorganismos aerobios comunes. La medición de la zona puede facilitarse usando un equipo de interpretación de zona **BBL Sensi-Disc**.

7. Se deben incluir pruebas de control que utilicen cultivos ordenados todos los días que se realicen las pruebas de sensibilidad o bien semiautomáticamente, si se puede documentar un rendimiento satisfactorio conforme al criterio del CLSI.<sup>6</sup> Las dimensiones típicas de las zonas para *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 25923, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *H. influenzae* ATCC 49247, *H. influenzae* ATCC 49766, *N. gonorrhoeae* ATCC 49226, *S. pneumoniae* ATCC 49619, *E. coli* ATCC 35218 (cepa productora de β-lactamas) y *E. faecalis* ATCC 29212 (para pruebas de control de calidad con discos de gentamicina de 120 µg y de estreptomidina de 300 µg) y *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603 (para pruebas de evaluación y confirmación de ESBL) se presentan en el gráfico (o en las notas de pie de página) e indican el rendimiento adecuado de todo el procedimiento. También se recomienda *E. faecalis* ATCC 29212 (o 33186) para evaluar lotes nuevos de agar Mueller Hinton para detectar bajo contenido de timina y timidina (vea la nota de pie de página tt). *H. influenzae* ATCC 10211 se recomienda para una cepa de control de calidad adicional útil para verificar las propiedades de incentivo de crecimiento en el agar del medio de prueba *Haemophilus*.<sup>7</sup>

**RESULTADOS**<sup>6,7</sup> – **NOTA:** Los criterios de interpretación recomendados se basan en las pautas posológicas y vías de administración habituales en EE.UU.

Comenzando en 2006, el CLSI estableció intervalos de interpretación de diámetro de zona para *Neisseria meningitidis*, *Burkholderia cepacia* y *Streptophomans maltophilia*. Para estos intervalos, consulte CLSI M100-S21<sup>7</sup> o el último suplemento M100 disponible. Además, puede consultarse la directiva M45 del CLSI – *Methods for Antimicrobial Dilution and Disk Susceptibility Testing of Infrequently Isolated or Fastidious Bacteria* – para obtener confirmación sobre el análisis de un conjunto de microorganismos que incluye *Campylobacter*, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., etc.<sup>9</sup> Si los microorganismos no aparecen en la tabla adjunta o en las referencias mencionadas, indica que los estudios todavía no son adecuados para desarrollar normas definitivas y reproducibles para la interpretación de los resultados. Si es necesario, un método de dilución generalmente será el método de análisis más apropiado, que puede precisar remitir el organismo a un laboratorio de referencia. En algunos casos, el CLSI ha implementado nuevos intervalos de diámetro de zona para criterios de control de calidad o interpretativo. Cuando ha ocurrido esto, se añade una nota de pie de página "aa" indicando que los diámetros de zona aprobados por la FDA difieren de las recomendaciones actuales del CLSI.

Compare los diámetros de las zonas registradas con los del gráfico; el resultado obtenido con cada organismo específico puede anunciarse como resistente, intermedio o sensible. Para algunas combinaciones de organismos/antimicrobianos, la ausencia de cepas resistentes excluye la posibilidad de definir otra categoría de resultados que no sea "Sensible". Para cepas cuyos resultados sugieran una categoría de "no sensible", deben confirmarse los resultados de la prueba de sensibilidad antimicrobiana y la identificación del microorganismo. Si se confirma, la cepa aislada debe guardarse y remitirse a un laboratorio de referencia, que confirmará los resultados mediante un método de dilución de referencia de CLSI.<sup>6</sup>

Una prueba rápida de β-lactamas (por ejemplo, utilizando discos de **Cefinase**) puede ofrecer información clínicamente relevante antes que una prueba de difusión en disco para *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae* y *Moraxella catarrhalis*; es la única prueba fiable para detectar *Enterococcus* spp. productoras de β-lactamas. Una prueba de β-lactamas positiva predice la resistencia a la penicilina, ampicilina y amoxicilina entre *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae* y *M. catarrhalis* y resistencia a la penicilina, incluidas la penicilina acilaminica, carboxilica y ureidica entre estafilococos y enterococos. Una prueba de β-lactamas negativa no descarta la resistencia debido a otros mecanismos. No analice los miembros de *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* spp. ni otros bacilos aerobios gramnegativos, ya que los resultados pueden no predecir la sensibilidad a los β-lactámicos más usados para la terapia. La detección exacta de β-lactamas en estafilococos puede requerir la inducción de la enzima y la incubación de una prueba basada en nitrocefina durante hasta 1 h. La inducción se puede lograr con facilidad anulando el crecimiento desde el margen de la zona que rodea al disco de oxacilina de la prueba. Se debe tener mucho cuidado para asegurarse de que los resultados sean exactos, incluido el análisis de cepas de control positivas y negativas en el momento en que se examinan los aislados clínicos.<sup>6</sup>

**Enterobacteriaceae:** Para los aislados fecales de *Salmonella* y de *Shigella* spp., sólo deben ser analizados y notificados sistemáticamente una ampicillina, una quinolona y la trimetoprim/sulfametoxazol. Por otro lado, el cloranfenicol y una cefalosporina de tercera generación deben ser analizados y notificados para los aislados extraintestinales de *Salmonella* spp. Para *Salmonella* y *Shigella* spp., los aminoglicosídos y las cefalosporinas de primera y segunda generación pueden parecer activos *in vitro*, pero no son eficaces en la práctica clínica y no deben declararse como sensibles.<sup>7</sup>

**Enterobacter**, **Citrobacter** y **Serratia** pueden presentar resistencia durante la terapia prolongada con las cefalosporinas de tercera generación. Por tanto, los aislados que son inicialmente sensibles pueden volverse resistentes 3



debe estar presente en la cepa de control para que la prueba de control de calidad sea válida; no obstante, el plásmido puede perderse durante el almacenamiento en el refrigerador o a temperaturas de congelación. Consulte las limitaciones del procedimiento y M2 para obtener detalles adicionales.

h Los neumococos aislados que presentan zonas de ≥ 20 mm con oxacilina son sensibles (CMI ≤ 0,06 µg/mL) a la penicilina y pueden considerarse sensibles a ampicilina, amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina/sulbactam, cefaclor, cefdinir, cefepima, cefetamet, cefixima, cefotaxima, cefprozil, cefibuten, ceftriaxona, cefuroxima, cefepodoxima, ceftiozoxima, ceftizoxima, eretapenem, imipenem, loracarbef y meropenem para las indicaciones aprobadas, sin necesidad de analizar estos agentes. Se debe determinar la CIM para penicilina, meropenem y cefotaxima o ceftriaxona en los aislados con zonas de ≤ 19 mm para oxacilina, ya que se producen zonas de ≤ 19 mm con cepas resistentes a la penicilina. cepas intermedias o con determinadas cepas sensibles. Los aislados no deben comunicarse como resistentes o intermedios a la penicilina basándose sólo en una zona de ≤ 19 mm para oxacilina. Se pueden utilizar amoxicilina, ampicilina, cefepima, cefotaxima, ceftriaxona, cefuroxima, eretapenem, imipenem, y meropenem para su actividad in infecciones neumocóccas; sin embargo, no existen todas pruebas de sensibilidad fiables de difusión en disco con estos agentes. Su tratar *in vitro* se determina mejor utilizando un método de CMI (Concentración Mínima Inhibitoria). Penicilina, cefotaxima o ceftriaxona y meropenem deben analizarse por un método de CMI fiable (tal como se describe en el documento M7<sup>2</sup> del CLSI) y declararse rutinariamente con los aislados de *S. pneumoniae* obtenidos de LCR. Esos microorganismos aislados también deben analizarse para vancomicina, utilizando el método de CMI o de disco. Con aislados de otras zonas del organismo, se puede utilizar la prueba de detección con disco de oxacilina. Si la zona de oxacilina es ≤ 19 mm, se debe determinar las CIM para penicilina, cefotaxima o ceftriaxona. Para determinar la sensibilidad al cefdinir de estreptococos distintos de *S. pneumoniae*, utilice el disco de penicilina de 10 unidades; los aislados con zonas ≥ 28 mm para penicilina son sensibles a la penicilina y pueden considerarse sensibles al cefdinir.

i Un aislado estreptocócico que es sensible a la penicilina puede considerarse sensible a ampicilina, amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina/sulbactam, cefaclor, cefazolina, cefdinir, cefepima, cefprozilo, cefotaxima, cefibuten (únicamente estreptococos del grupo A), ceftriaxona, cefuroxima, cefepodoxima, ceftiozoxima, cefalotina, cefapirina, cefradina, imipenem, loracarbef y meropenem para las indicaciones aprobadas, y no necesita analizarse para estos agentes. La sensibilidad a la penicilina o ampicilina de los estreptococos del grupo Viridans aislados de zonas del organismo normalmente estériles (p. ej., líquido cefalorraquídeo, sangre, hueso, etc.) se debe analizar utilizando un método de CIM.

j Los estafilococos sensibles a la penicilina también son sensibles a otras penicilinas, combinaciones de inhibidores de β-lactámicos y de β-lactamasas, cefemas y carbaпенemсs aprobadas por la FDA para el uso en las infecciones estafilocócicas. Las cepas resistentes a penicilina y sensibles a oxacilina son resistentes a las penicilinas lábiles de penicilinas, pero sensibles a otras penicilinas estables a la penicilinas, las combinaciones de inhibidores de β-lactámicos y de β-lactamasas, cefemas relevantes y carbaпенemсs. Los estafilococos resistentes a la oxacilina son resistentes a todos los antibióticos β-lactámicos actualmente disponibles. Por tanto, la sensibilidad o la resistencia a una gran variedad de antibióticos β-lactámicos pueden deducirse del análisis exclusivo de penicilina y oxacilina. La pruebas de rutina de las otras penicilinas, combinaciones de inhibidores de β-lactámicos y de β-lactamasas, cefemas y carbaпенemсs no se recomiendan.<sup>7</sup> En el caso de los estafilococos resistentes a la oxacilina, declarar como resistentes o no informar.

k Algunas cepas raras de *Haemophilus influenzae*, β-lactamasa negativas, resistentes a la ampicilina (BLNRA), también deben ser consideradas resistentes a amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina/sulbactam, cefaclor, cefetamet, cefonicida, cefprozilo, cefuroxime y loracarbef, a pesar de que algunas cepas BLNRA muestran una aparente sensibilidad a estos agentes *in vitro*.

l Representante de la clase de ampicilina y amoxicilina.

m Para *V. cholerae*, los resultados de las pruebas de difusión en disco para ampicilina, tetraciclina, trimetoprim/sulfametoxazol y sulfonamidas (es decir, los porcentajes correspondientes a sensible, intermedia y resistente) se correlacionan bien con los resultados determinados por la microdilución en caldo. Los resultados de la tetraciclina pueden utilizarse para predecir la probable sensibilidad a la doxiciclina de los aislados; no utilice el análisis en disco para la doxiciclina o eritromicina porque su correlación con los resultados de CMI es mala.

n La ampicilina es la clase representativa para la ampicilina y la amoxicilina. Los resultados para ampicilina se pueden utilizar para determinar la sensibilidad a amoxicilina/ácido clavulánico, ampicilina/sulbactam, piperacilina y piperacilina/tazobactam entre los enterococos no productores de β-lactamasa. La sensibilidad a la penicilina puede utilizarse para predecir la sensibilidad a ampicilina, amoxicilina, ampicilina/sulbactam, amoxicilina/ácido clavulánico, piperacilina y piperacilina/tazobactam para los enterococos no productores de β-lactamasa. No obstante, los enterococos sensibles a la ampicilina no pueden ser sensibles a la penicilina. Si se necesitan resultados de penicilina, debe hacerse una análisis de penicilina. Puesto que la resistencia a penicilina o ampicilina entre los enterococos debida a la producción de β-lactamasa no se detecta de manera fiable utilizando los métodos sistemáticos de dilución o de disco, se recomiendan las pruebas directas de β-lactamasa que utilizan nitrofeina para los microorganismos aislados en sangre y líquido cefalorraquídeo. Una prueba positiva para β-lactamasa predice resistencia a penicilina, así como también a aminopenicilina, carboxipenicilina y ureidopenicilina. Determinados enterococos resistentes a penicilina o ampicilina pueden tener un alto nivel de resistencia (Ej., CMI para penicilina ≥ 128 µg/mL o CMI para ampicilina ≥ 64 µg/mL). La prueba en disco no diferencia los que tienen resistencia normal de los que tienen este alto nivel de resistencia. Para los enterococos obtenidos de muestras de sangre y de líquido cefalorraquídeo (LCR), el laboratorio debe considerar la determinación de la CMI actual para penicilina o ampicilina, ya que las cepas enterocócicas con un nivel de resistencia más bajo de lo normal (CMI para penicilina ≤ 64 µg/mL y ampicilina ≤ 32 µg/mL) deben considerarse potencialmente sensibles a la sinergia con un aminoglicosido (en ausencia de un alto nivel de resistencia a los aminoglicosídeos), mientras que las cepas con un nivel de resistencia más alto del normal, pueden ser resistentes a tal sinergia.<sup>6</sup>

o La sinergia entre la ampicilina, la penicilina o la vancomicina y un aminoglicosido puede predecirse en los enterococos por medio de una prueba de detección con un aminoglicosido de alto nivel (gentamicina y estreptomocina). No es necesario analizar otros aminoglicosídeos, porque sus actividades contra los enterococos no superan la de la gentamicina y la estreptomocina.

p Los resultados de las pruebas de sensibilidad a la ampicilina deben utilizarse para predecir la actividad de la amoxicilina. La mayoría de los aislados de *H. influenzae* resistentes a la ampicilina y la amoxicilina producen una β-lactamasa de tipo TEM. En la mayor parte de los casos, una prueba directa de β-lactamasa puede ser un método rápido para detectar la resistencia a ampicilina y amoxicilina.

q Puede informarse para *Acinetobacter* spp. resistentes a otros agentes.

r No se detecta sistemáticamente para los aislados de las vías urinarias.

s La sensibilidad y la resistencia a la azitromicina, la claritromicina y la dritromicina pueden predecirse utilizando la eritromicina.

t Véase la discusión de los ESBL en “RESULTADOS”. Para realizar análisis de detección y confirmación de ESBL en *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca* y *E. coli*, véase la sección de “RESULTADOS” y referencias 7. Los puntos límites de análisis (agar Mueller Hinton, procedimiento normal de difusión en disco, 35 ± 2 °C, temperatura ambiente, 16 – 18 h) son: aztreonam (≤ 27 mm), ceftazidima (≤ 22 mm), cefotaxima (≤ 27 mm), cefepodoxima (≤ 17 mm) y ceftriaxona (≤ 17 mm). Las recomendaciones para el control de calidad son: *E. coli* ATCC 25922 (como se indica en el diagrama); *K. pneumoniae* ATCC 700603 (aztreonam 9 – 17 mm), ceftazidima (10 – 18 mm), cefotaxima (17 – 25 mm), cefepodoxima (9 – 16 mm) y ceftriaxona (16 – 24 mm).<sup>7</sup> Las pruebas de confirmación fenotípicas requieren el uso conjunto de cefotaxima y ceftazidima, solas y en combinación con ácido clavulánico. Un diámetro de la zona ≥ 5 mm con cualquiera de los agentes antimicrobianos analizados en combinación con el ácido clavulánico vs. la dimensión de la zona al ser analizados por sí solos = ESBL. Las recomendaciones para Control de Calidad son: cepa negativa *E. coli* ATCC 25922 que produce un aumento de ≤ 2 mm del diámetro de la zona para el agente antimicrobioanalizado por sí solo vs. el diámetro de la zona al ser analizado en combinación con ácido clavulánico; cepa positiva *K. pneumoniae* ATCC 700603 que produce un aumento de ≥ 3 mm en el diámetro de la zona de cefotaxima y un aumento de ≥ 5 mm en el diámetro de la zona de ceftazidima. Véase “Limitaciones del procedimiento”. Vea referencia 7 para detalles del procedimiento.

u La cefalotina puede utilizarse para predecir la actividad de la cefalotina, cefapirina, cefradina, cefalexina, cefaclor y cefadroxilo. La cefazolina, cefuroxima, cefepodoxima, cefprozilo y loracarbef (sólo para aislados urinarios) pueden analizarse individualmente porque algunos aislados pueden ser sensibles a estos agentes cuando son resistentes a cefalotina.

v No se usa para analizar *Morganella* spp.

w Para *N. gonorrhoeae*, un resultado intermedio para un agente antimicrobiano indica la existencia de un problema técnico, que debería resolverse mediante repetición de la prueba, o la falta de experiencia clínica en el tratamiento de organismos que producen estas zonas. El último caso parece ser lo que ocurre con el cefmetazol, cefotetan, cefoxitina y espectinomocina. Las cepas que tienen zonas intermedias con los otros agentes tienen una tasa de curación clínica documentada inferior (85 – 95%), en comparación con > 95% de las cepas sensibles.

x Para aislados procedentes de líquido cefalorraquídeo, deben analizarse y comunicarse los resultados de cefotaxima, ceftiozoxima y ceftriaxona en lugar de los de cefalotina y cefazolina.

y Puesto que se ha declarado que algunas cepas de *Providencia* spp. dan resultados de sensibilidad falsos con discos de cefprozilo, las cepas de este género no deben analizarse ni declararse con este disco.

z Indicado exclusivamente para los aislados de orina. Además de analizar aislados de orina, el ácido nalidixico puede utilizarse para detectar una menor sensibilidad a la fluoroquinolona en aislados de pacientes con infecciones extraintestinales de *Salmonella*. Véase la nota de pie de página ddd.

aa Los diámetros de zona aprobados por la FDA para criterios de control de calidad o interpretativo que difieran de las recomendaciones del CLSI.

bb Para *V. cholerae*, utilice con cautela, porque la prueba de difusión en disco puede clasificar muchos organismos erróneamente (siendo elevada la tasa de errores menores).

cc No se han establecido criterios para apoyar el análisis de este fármaco con *Streptococcus pneumoniae*. El rango de control se presenta sólo para propósitos de control de calidad.

dd La colistina y la polimixina B se difunden escasamente en agar, por lo que la precisión del método de difusión es menor que para otros antibióticos. La resistencia es siempre significativa, pero cuando se considera el tratamiento de enfermedades sistémicas causadas por cepas sensibles, se recomienda confirmar los resultados de la prueba de difusión con un método de dilución.

ee Los microorganismos sensibles a la tetraciclina también se consideran sensibles a la doxiciclina y minociclina. Sin embargo, algunos microorganismos intermedios o resistentes a la tetraciclina pueden ser sensibles a la doxiciclina, a la minociclina o ambas.

ff Aprobado por la FDA para *S. saprophyticus* y *S. epidermidis* (no *S. aureus*).

gg Para los límites de control de los discos de 120 µg de gentamicina y 300 µg de estreptomocina, utilice *E. faecalis* ATCC 29212 (gentamicina: 16 – 23<sup>h</sup> mm; estreptomocina: 14 – 20<sup>h</sup> mm).

hh Si la zona es de 7 – 9 mm, la prueba no es concluyente y debe realizarse una prueba de dilución en agar o de microdilución en caldo para confirmar la resistencia.

ii Tamaños de las zonas recomendados por el CLSI que difieren del tamaño de las recomendaciones sobre tamaños de zonas aprobados por la FDA.

jj No se han establecido criterios para respaldar el ensayo de este fármaco con *H. influenzae*. El intervalo de control se indica solamente para fines de control de calidad.

kk Puesto que se ha comunicado que algunas cepas de *Citrobacter*, *Providencia* y *Enterobacter* spp. dan resultados de sensibilidad falsos con los discos de cefdinir y de loracarbef, las cepas de estos géneros no deben ser analizadas ni declaradas con estos discos.

ll Aprobado por la FDA para *K. pneumoniae*.

mm No se han establecido criterios para apoyar el análisis de este fármaco con *Pseudomonas aeruginosa*. El rango de control se presenta sólo para propósitos de control de calidad.

nn Si se ha analizado una penicilina estable a la penicilinas, la oxacilina es el agente de elección y los resultados se pueden aplicar a otras penicilinas aplicables a la penicilinas, cloxacilina, dicloxacilina, fluoxacilina, meticilina y nafcilina. Se prefiere la oxacilina porque es más resistente a la degradación durante el almacenamiento y porque tiene mayor probabilidad de detectar cepas estafilocócicas heteroresistentes. Los discos de cloxacilina no deben utilizarse porque pueden no detectar *S. aureus* resistentes a la oxacilina. Puede analizarse la cefoxitina en lugar de la oxacilina (véase M100-S21). Después de un periodo de incubación de 24 h, examine si hay un crecimiento leve dentro de la zona de inhibición del disco de oxacilina, utilizando luz transmitida (sujetando la placa contra un foco de luz). Cualquier crecimiento discernible dentro de la zona de inhibición es indicativo de la resistencia a la oxacilina.

oo Si se obtiene resultados intermedios de la oxacilina para *S. aureus*, realice el análisis para *mecA* o PBP 2a, la prueba de disco de cefoxitina o una prueba CIM oxacilina o una prueba de detección en agar con sal de oxacilina. Notifique el resultado de la prueba alternativa y no del resultado intermedio.

pp Las cepas de *Staphylococcus aureus* resistentes a penicilina y sensibles a oxacilina producen β-lactamasa, por lo que se prefiere el análisis del disco de 10 unidades de penicilina en lugar del disco de ampicilina. Se debe utilizar la penicilina para analizar la sensibilidad de todas las penicilinas lábiles a β-lactamasas, como ampicilina, amoxicilina, azlocilina, carbenicilina, mezlocilina, piperacilina y ticarcilina. Asimismo, una prueba positiva de la β-lactamasa predice la resistencia a estos agentes.<sup>6</sup> En el caso de los estafilococos resistentes a la oxacilina, declarar como resistentes o no informar.

qq Una prueba positiva de la β-lactamasa predice la resistencia a penicilina, ampicilina y amoxicilina. La prueba de la β-lactamasa detectará una forma de resistencia a la penicilina en *N. gonorrhoeae*, y también puede utilizarse para obtener información epidemiológica. Las cepas con resistencia mediada por cromosomas pueden detectarse únicamente por pruebas adicionales de la sensibilidad, tales como el método de difusión en disco o el método de determinación de la CIM por dilución en agar. Los gonococos analizados con discos de 10 unidades de penicilina que muestren diámetros ≤ 19 mm probablemente son cepas productoras de β-lactamasa. Sin embargo, la prueba de β-lactamasa se prefiere a otros métodos de sensibilidad para la determinación rápida y segura de esta resistencia a la penicilina mediada por plásmidos.

rr Las pruebas de sensibilidad a la penicilina de *S. pyogenes* rara vez son necesarias, porque este microorganismo sigue siendo universalmente sensible a la penicilina. Sin embargo, algunas cepas de *S. agalactiae* pueden dar resultados intermedios a la penicilina.<sup>7</sup>

ss La tigeiclina tiene una actividad reducida *in vitro* contra *Morganella* spp., *Proteus* spp. y *Providencia* spp.

tt El disco de sulfisoxazol puede ser usado para representar cualquiera de las sulfonamidas normalmente disponibles. Los medios que contienen sangre (excepto la sangre lisada de caballo) generalmente no son adecuados para analizar las sulfonamidas o la trimetoprima. El agar de Mueller Hinton debe estar lo más libre posible de timidina para las pruebas de sulfonamida *yo* trimetoprima. Para determinar si el agar de Mueller Hinton tiene niveles de timina y timidina lo suficientemente bajos, se debe analizar *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 a ATCC 31386 con el disco de trimetoprima-sulfametoxazol (véase ref. 13). Una zona de inhibición ≥ 20 mm básicamente libre de colonias diminutas indica la presencia de niveles suficientemente bajos de timina y timidina.<sup>6</sup>

uu Los gonococos que producen zonas de ≤ 19 mm de diámetro con el disco de 30 µg de tetraciclina suelen indicar un aislado de *N. gonorrhoeae* cuya resistencia a la tetraciclina es mediada por plásmido (TRNG). Estas cepas deben ser confirmadas por una prueba de dilución (CMI ≥ 16 µg/mL) *yo* remitidas a un laboratorio de salud pública para su investigación epidemiológica.

vv Todos los aislados de estafilococos con un diámetro de la zona de vancomicina de 14 mm o menos deben analizarse por un método de CMI (Concentración Mínima Inhibitoria). El procedimiento de difusión en disco no diferencia las cepas con una sensibilidad reducida a la vancomicina (CMI 4 a 8 µg/mL) de las cepas sensibles (rango de CMI de 0,5 a 2 µg/mL), incluso si se incuba 24 h. Además, las cepas de *S. aureus* resistentes a la vancomicina (VRSA) (CIM ≥ 16 µg/mL) es posible que produzcan solo un crecimiento sutil alrededor de un disco de vancomicina. La prueba de detección de agar con vancomicina descrita para enterococos (agar infusión de cerebro y corazón con 6 µg/mL de vancomicina) puede utilizarse para mejorar la sensibilidad de detección de cepas vancomicina intermedias y vancomicina resistentes de *S. aureus* incubando las placas durante 24 h a 35 °C.<sup>6</sup> La utilización de una cepa sensible para control de calidad, tal como *E. faecalis* ATCC 29212 es crítica para asegurar la especificidad. *E. faecalis* ATCC 51299 puede utilizarse como control positivo (es decir, resistente). Hasta que no se conozcan datos adicionales sobre la prevalencia o importancia clínica de estos aislados, los laboratorios pueden preferir examinar cepas MRSA con más cuidado para detectar CIM elevadas a vancomicina.<sup>6</sup> Actualmente no hay datos suficientes para recomendar el uso de esta prueba de detección en agar para estafilococos coagulasa negativo en agar para estafilococos coagulasa negativos. Envíe cualquier estafilococo con CIM elevado a vancomicina (≥ 4 µg/mL) a un laboratorio de referencia.

ww Cuando se analiza la vancomicina frente a los enterococos, las placas deben mantenerse durante 24 h y se deben examinar utilizando luz transmitida; la presencia de una sombra o cualquier crecimiento en la zona de inhibición indica resistencia. Los organismos con zonas intermedias deben analizarse por un método de CMI tal como lo describe el documento M7 del CLSI. Véase también la prueba de detección en agar para vancomicina descrita en la Tabla de CMI 2D (M100-S21).<sup>9</sup>

xx No se ha observado ninguna cepa de *S. pneumoniae* con una zona de inhibición por vancomicina <17 mm; tales cepas deben remitirse a un laboratorio de referencia.<sup>7</sup>

yy Debido a las limitadas alternativas, se puede utilizar cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina (o doxicilina o minociclina) y rifampicina para enterococos resistentes a vancomicina (VRE) además de consultar con un especialista en enfermedades infecciosas.<sup>7</sup>

zz No se han establecido criterios para respaldar el ensayo de este fármaco con *N. gonorrhoeae*. El intervalo de control se indica solamente para fines de control de calidad.

aaa No se han observado cepas de estreptococos β-hemolíticos con diámetros de zona de ampicilina, cefepima, cefotaxima, ceftriaxona o penicilina inferiores a 24 mm; las cepas de estas características deben remitirse a un laboratorio de referencia.

bbb El deterioro del contenido del disco de oxacilina se valora mejor con *S. aureus* ATCC 25923, con un diámetro de zona aceptable de 18 – 24 mm.

ccc Para ampicilina, cefepima, cefotaxima, ceftriaxona y penicilina, los **estreptococos sólo β-hemolíticos** incluyen las cepas piogénicas formadoras de grandes colonias de estreptococos con antígenos del grupo A (*S. pyogenes*), C o G, y cepas con antígeno del grupo B (*S. agalactiae*). Para cefepima, cefotaxima y ceftriaxona, *S. viridans* incluye las cepas β-hemolíticas formadoras de pequeñas colonias con antígenos del grupo A, C, F o G (*S. aginosus*, anteriormente denominado *S. milleri*) además de *S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. intermedius*, *S. constellatus*, *S. mutans* y *S. bovis*.

ddd Las cepas de *Salmonella* sensibles a la fluoroquinolona y resistentes al ácido nalidixico pueden asociarse con una falla clínica o demora en la respuesta de pacientes con salmonelosis extraintestinal tratadas con fluoroquinolona. Se puede considerar la realización de la prueba de resistencia al ácido nalidixico en aislados extraintestinales de *Salmonella*. Para aislados sensibles a fluoroquinolonas y resistentes a ácido nalidixico, el método debe ser informado de que es posible que no se erratique el aislado mediante un tratamiento con fluoroquinolona. Se recomienda consultar con un especialista en enfermedades infecciosas.

eee No se han establecido criterios para respaldar el ensayo de este fármaco con *S. aureus*. El intervalo de control se indica solamente para fines de control de calidad.

REFERENCIAS: Ver “Referencias” en el texto en inglés.

## BD BBL Sensi-Disc Antimicrobial Susceptibility Test Discs (Discos para teste da sensibilidade antimicrobiana BBL Sensi-Disc)

Português

**UTILIZAÇÃO PRETENDIDA** – Estes discos são usados para teste semi-quantitativo da sensibilidade *in vitro* mediante o procedimento de teste de difusão em disco de agar para agentes patogénicos bacterianos comuns de crescimento rápido e para determinados agentes patogénicos bacterianos de crescimento lento. Neles se incluem as *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus* spp., *Pseudomonas* spp., *Acinetobacter* spp., *Enterococcus* spp., *Vibrio cholerae* e, através de procedimentos modificados, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* e outros estreptococos. NOTA: São necessários procedimentos especiais quando se testam pneumococos, enterococos e estafilococos resistentes à meticilina/oxacilina, quando se efectuam testes para as β-lactamasas e quando se realizam análises de rastreio e confirmação para ESBL; consultar a secção “RESULTADOS”.

Para obter os critérios de interpretação do diâmetro da zona adoptados em França, consultar as instruções apresentadas na secção deste folheto em francês.

**RESUMO E EXPLICAÇÃO** – Os métodos de difusão em agar utilizando discos de papel de filtro secos e impregnados com concentrações específicas de agentes antimicrobianos foram desenvolvidos nos anos quarenta. Com o objectivo de eliminar ou minimizar a variabilidade destes testes, Bauer et al. desenvolveriam um procedimento padronizado no qual se optou por Agar de Mueller Hinton como veio de teste.<sup>1,2</sup> Várias agências regulamentadoras e organizações que têm a seu cargo o estabelecimento de padrões publicaram subsequentemente procedimentos de referência padronizados baseados no método de Bauer-Kirby. Entre os primeiros e mais amplamente aceites destes procedimentos padronizados incluem-se os publicados pela Food and Drug Administration dos EUA (FDA)<sup>3</sup> e pela Organização Mundial de

Saúde (OMS).<sup>4,5</sup> O procedimento foi adoptado como padrão de consenso pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, anteriormente NCLSS), sendo objecto de uma actualização periódica.<sup>6,7</sup> Para as **recomendações actuais, deverão consultar-se os documentos mais recentes do CLSI.**

**PRINCÍPIOS DO PROCEDIMENTO** – Aplicam-se discos contendo uma ampla variedade de agentes antimicrobianos na superfície de placas de agar de Mueller Hinton (ou Haemophilus Test Medium Agar para *H. influenzae*, de agar de GC II enriquecido com IsoVitalEx para *N. gonorrhoeae* ou agar de Mueller Hinton com 5% de sangue de ovelha para *S. pneumoniae* e estreptococos β-hemolíticos e do grupo viridans) previamente incubadas com culturas puras de isolados clínicos. Após a incubação, *procede-se* à análise das placas e à medição das zonas de difusão que circundam os discos, que são comparadas com intervalos de dimensão de zona estabelecidos para agentes antimicrobianos individuais, visando determinar o(s) agente(s) mais adequado(s) a usar na terapêutica antimicrobiana.

**REAGENTES** – Os discos da marca Sensi-Disc são discos de 6 mm, preparados através da impregnação de papel absorvente de alta qualidade com quantidades rigorosamente determinadas de antibióticos ou de outros agentes quimioterápicos. Os discos estão claramente assinalados dos dois lados com letras e números, que designam o agente e o fármaco presente. (Consultar o quadro onde se facultam as concentrações dos princípios reactivos.) O conteúdo dos discos em fármaco é analisado recorrendo a métodos estabelecidos pela FDA ou a métodos semelhantes ou comparáveis aos publicados no *Registo Federal* dos EUA.

Os agentes **Sensi-Disc** são fornecidos em cartuchos contendo 50 discos cada. O último disco de cada cartucho está marcado com um “X” e contém o fármaco, conforme codificado. Os cartuchos destinam-se a ser usados com dispensadores BBL Sensi-Disc Dispensers; estes são constituídos por um Dispensador de Disco Único, um Dispensador de 8 Lugares para placas de Petri de 100 mm, Dispensadores de 6 e 8 Lugares Auto-Impactadores para placas de 100 mm e um Dispensador de 12 Lugares Auto-Impactador para placas de 150 mm.

**Advertências e precauções:** Para diagnóstico *in vitro*.

Seguir as instruções de utilização; o desempenho do disco depende não só da potência do disco, mas também da utilização de um inóculo e de culturas de controlo adequados, de placas funcionais previamente testadas, de uma temperatura de armazenamento adequada e de outros factores.

Utilizar técnicas assépticas e cumprir as precauções estabelecidas contra perigos microbiológicos em todos os procedimentos. Esterilizar as culturas, recipientes e outro material contaminado após a utilização.

**Instruções de Armazenamento:**

- Após a sua recepção, armazenar os discos entre -20°C – +8°C. Se o frigorífico do laboratório for aberto e fechado com frequência e não for possível manter uma temperatura adequada, armazenar apenas uma quantidade suficiente para usar no prazo de uma semana. Alguns discos (por exemplo, β-lactámicos) deverão ser armazenados, de preferência, congelados a -20°C.
- Deixar os recipientes atingir a temperatura ambiente antes de os abrir. Voltar a colocar os discos não utilizados no frigorífico quando se concluir a aplicação de discos. Uma vez abertos, os discos devem ser colocados num recipiente dessecado estanque para armazenamento.
- Utilizar primeiro os discos mais antigos.
- Eliminar os discos cujo prazo de validade terminou. Análogamente, também se deverão descartar os cartuchos dos quais se retiraram frequentemente discos durante uma semana e os discos deixados à temperatura ambiente dum dia para o outro no laboratório. Em alternativa, estes discos deverão ser testados relativamente a um desempenho aceitável antes de se prosseguir com a sua utilização.
- Se os discos formarem zonas incorrectas com os microorganismos de controlo recomendados, deverá verificar-se todo o procedimento; dimensões de zona inadequadas poderão dever-se ao disco, à inoculação, à preparação ou profundidade (cerca de 4 mm) do meio, bem como a outros factores.

O prazo de validade só se aplica a discos em recipientes intactos, armazenados conforme indicado.

**AMOSTRAS** – Por rotina, não se deverão utilizar amostras neste teste. Consultar as Instruções, onde se inclui a preparação do inóculo. Se possível, as culturas deverão provir de amostras colhidas no doente antes de se iniciar a terapêutica antimicrobiana.

**PROCEDIMENTO**

**Material Fornecido:** Discos para teste da sensibilidade Sensi-Disc, conforme o rótulo.

**Materiais Necessários mas Não Fornecidos:** Meios de cultura auxiliares, reagentes, microorganismos de controlo de qualidade e equipamento laboratorial necessário para a realização do teste de sensibilidade por difusão em disco através do procedimento padronizado. Preparar um padrão de turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland, adicionando 0,5 mL de BaCl<sub>2</sub> 0,048 M (1,75% [peso/vol] BaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O) a 99,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,18 M (0,36N) (1% [vol/vol]). Confirmar recorrendo a um espectrofotómetro com um trajecto luminoso de 1 cm e cuvete correspondente; a 625 nm, a absorbância deverá ser 0,08 – 0,13.

**Instruções, Incluindo Controlos do Utilizador:<sup>6</sup>**

1. Preparação do inóculo com culturas de teste e de controlo.

- Efectuar uma coloração Gram. Utilizar exclusivamente culturas puras.
- Escolher três a cinco colónias semelhantes e transferir, recorrendo a uma agulha ou ansa de inoculação, para 4 a 5 mL de um caldo adequado, tal como caldo de soja **Trypticase** (ou caldo de Mueller Hinton para microorganismos de crescimento lento).
- Incubar as culturas em caldo a 35°C durante 2 a 6 h, caso seja necessário, para desenvolver uma turbidez equivalente a um padrão de turbidez de McFarland de 0,5 (aproximadamente 1 a 2 x 10<sup>8</sup> UFC/mL). Em alternativa, fazer uma suspensão directa, em caldo ou solução salina, de colónias seleccionadas a partir de uma placa de agar incubada durante a noite (para *H. influenzae* e *N. gonorrhoeae*, deverá usar-se um meio não selectivo, tal como agar de sangue ou agar de chocolate). **O método de suspensão directa das colónias é preferível no caso de *Staphylococcus* spp., *S. pneumoniae* e outros estreptococos, *Haemophilus* spp. e *N. gonorrhoeae*.**
- Diluir, caso se mostre necessário, para obter uma turbidez equivalente a um padrão de turbidez de McFarland de 0,5. Para o diluente, usar caldo ou solução salina estéreis. Em alternativa, padronizar o inóculo fotometricamente; para facilitar o ajuste de microorganismos de crescimento rápido ao inóculo, poderá usar-se o Sistema de Inoculação **Prompt** (dispositivo de preparação de inóculo volumétrico).<sup>8</sup> Não se deverão usar culturas de caldo como inóculo durante a inoculação.

2. Inoculação.

- Decorridos 15 min, mergulhar uma zaragatoa de algodão estéril no inóculo ajustado correctamente e girar firmemente várias vezes contra a parede superior interna do tubo, para espremer líquido em excesso.
- Riscar toda a superfície da placa de agar de agar de Mueller Hinton (ou outro agar adequado) três vezes, rodando a placa 60° entre os riscos para obter uma inoculação uniforme.
- A tampa pode permanecer entreaberta durante 3 a 5 min, mas não mais de 15 min, para permitir a absorção de qualquer humidade à superfície antes de se aplicarem os discos impregnados de fármaco.
- Escolher os discos adequados (conforme recomendado na referência 7, Quadros 1A e 1B M100 [M2]).
- Aplicar os discos utilizando um dispensador **BBL**, usando precauções de assépsia. Depositar os discos de forma que o intervalo entre o seu centro seja de, pelo menos, 24 mm. É preferível depositar os discos de penicilina e cefalosporina de forma a que fiquem a mais de 10 mm da extremidade da placa de Petri, com um intervalo de pelo menos 30 mm entre os centros. Evitar colocar estes discos adjacentes entre si. Para *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* e *S. pneumoniae*, usar um número máximo de nove discos por placa de 150 mm ou quatro discos por placa de 100 mm. Se os discos forem colocados no agar utilizando um Dispensador Sem Auto-Impactação, é necessário pressioná-los com uma agulha ou pinça esterilizadas para estabelecer contacto com a superfície.
- Decorridos 15 min, colocar as placas de agar, viradas para cima, numa incubadora a 35°C ± 2°C (no caso de *Staphylococcus* spp., testar a temperatura acima de 35°C poderá não detectar estafilococos resistentes à metilicina (SRM); no caso de *N. gonorrhoeae*, colocar a 36 ± 1°C [não exceder 37°C]). *Haemophilus* spp., *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* e outros estreptococos deverão ser incubados numa atmosfera enriquecida com CO<sub>2</sub> a 5%.
- Analisar as placas ao fim de 16 – 18 h de incubação (20 – 24 h para *N. gonorrhoeae*, *S. pneumoniae* e outros estreptococos). No caso de *Staphylococcus* spp., recomenda-se um período de incubação completa de 24 h, para que seja possível detectar estafilococos resistentes à metilicina/nafcilina/oxacilina/vancomicina. O mesmo se aplica no caso de *Enterococcus* spp., para que seja possível detectar resistência à vancomicina. Medem-se os diâmetros das zonas de inibição completa, conforme determinados por inspecção visual *macroscópica*. As zonas são medidas até ao milímetro inteiro mais próximo. Para mais detalhes sobre a medição das

4. Poderão existir actualmente no mercado agentes antimicrobianos diferentes dos enumerados no Quadro. Os testes de sensibilidade que utilizem estes agentes deverão ser interpretados com base na presença ou ausência de uma zona de inibição definida e deverão ser apenas considerados como qualitativos até se terem estabelecido zonas de interpretação. Todos os diâmetros das zonas deverão ser registados.
5. O teste de confirmação para ESBL só é válido quando se utilizam simultaneamente os quatro discos (cefotaxima, cefotaximal/ácido clavulânico, ceftazidima, ceftazidima/ácido clavulânico). A utilização individual destes discos não é recomendada pelo CLSI.<sup>5,7</sup>
6. A obtenção de resultados rigorosos é função do correcto armazenamento e manutenção de microrganismos de controlo de qualidade. Isto aplica-se especialmente no caso de *E. coli* ATCC 35218 e *K. pneumoniae* ATCC 700603, uma vez que tem sido documentada a perda espontânea do plasmídeo que codifica a β-lactamase. Consulte a norma M2 do CLSI para obter as recomendações acerca do correcto armazenamento e manutenção dos microrganismos de controlo de qualidade.<sup>6</sup>
7. Desconhece-se a capacidade para detectar *Staphylococcus aureus* resistentes à vancomicina (VRSA) com este produto. Devem utilizar-se métodos de teste adicionais, conforme recomendado pelo Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos EUA quando se realizam testes de sensibilidade em isolados de *S. aureus*, particularmente em *S. aureus* resistentes à meticilina (MRSA). Estes testes incluem métodos de CIM não automatizados (como, por exemplo, microdiluição em caldo de carne ou diluição em agar) e um teste de rastreio de agar com vancomicina (Agar Infusão de Coração-Cérebro com 6 µg/mL de vancomicina). Estes métodos exigem 24 horas completas de incubação para detectar VRSA. Para mais informações, consultar o website do CDC.<sup>12</sup>
- † Adaptado, em parte, do Documento M100-S21 (M2) do CLSI; Disk Diffusion Supplemental Tables, *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, com autorização. A norma completa pode ser obtida no Clinical and Laboratory Standards Institute, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 EUA. Os valores que não estão presentes no M100-S21 são explicados noutras notas de rodapé. Para correlações adequadas com a CIM, consultar o M100-S21.<sup>6,7,9</sup>
- a A categoria “Intermédia” inclui isolados com CIMs para estes antimicrobianos próximos dos níveis que habitualmente se atingem no sangue e tecido e para os quais as taxas de resposta podem ser menores do que para isolados sensíveis. A categoria “Intermédia” implica aplicabilidade clínica em zonas do organismo onde os fármacos são fisiologicamente concentrados (por exemplo, quinolonas e β-lactâmicos na urina) ou quando é possível usar uma posologia do fármaco superior ao normal (por exemplo, β-lactâmicos). A categoria “Intermédia” também inclui uma “zona tampão” que deverá impedir que pequenos factores técnicos não controlados provoquem grandes discrepâncias na interpretação, especialmente para fármacos com margens estreitas de farmacotoxicidade.
- b As políticas relativas à produção de antibiogramas cumulativos deverão ser desenvolvidas em consonância com o serviço de doenças infecciosas, equipa para controlo das infeções e comité de farmácia e terapêutica. Na maior parte dos casos, a percentagem de resultados sensíveis e intermédios não deverá ser combinada nas mesmas estatísticas.
- c Estes padrões de diâmetro das zonas e limites de controlo de qualidade só se aplicam a testes com *Haemophilus* spp. usando *Haemophilus* Test Medium (HTM) incubado em CO<sub>2</sub> a 5% (16 – 18 h). Recomenda-se a utilização de *H. influenzae* ATCC 10211 como estirpe de controlo de qualidade adicional útil para confirmar as propriedades de promoção do crescimento do HTM. A margem da zona deverá ser considerada como a área que não exibe qualquer crescimento evidente visível a olho nu. Na medição, deverá ignorar-se o crescimento discreto de pequenas colónias que pareçam desaparecer da zona mais evidente. Ao testar *Haemophilus* com amoxicilina/ácido clavulânico em HTM, inclua *E. coli* ATCC 35218 como estirpe de controlo. O intervalo aceitável para *E. coli* ATCC 35218 é 17 – 22 mm para amoxicilina/ácido clavulânico quando incubada à atmosfera ambiente.
- d Estes padrões de diâmetro das zonas e limites de controlo de qualidade só são aplicáveis a testes efectuados com a base de agar de GC e suplemento de crescimento definido a 1% (como, por exemplo, agar de GC II da BBL Enriquecido com IsoVitalEx) incubado em CO<sub>2</sub> a 5% (20 – 24 h).
- e Estes padrões de diâmetro das zonas e limites de controlo de qualidade só são aplicáveis a testes efectuados com agar de Mueller Hinton suplementado com 5% de sangue de ovelha desfibrinado e incubado em CO<sub>2</sub> a 5% (20 – 24 h). Os padrões de interpretação aplicam-se a *S. pneumoniae* e a outros estreptococos conforme indicado. Os resultados podem ser imprecisos caso se apliquem os critérios especificados a microrganismos que não os enumerados. Os critérios de interpretação para estreptococos para além de *S. pneumoniae* são propostos com base em distribuições populacionais das várias espécies, farmacocinética dos agentes antimicrobianos, literatura previamente publicada e experiência clínica de alguns membros do subcomité do CLSI. Para muitos dos compostos do grupo, não foram disponibilizados para revisão dados clínicos recolhidos de forma sistemática.<sup>7</sup> Apesar da ausência de critérios fiáveis para interpretação da difusão do disco para *S. pneumoniae* com alguns β-lactâmicos, *S. pneumoniae* ATCC 49619 consiste na estirpe designada para controlo de qualidade de todos os testes da difusão do disco com todos os *Streptococcus* spp.
- f Recomendações de tamanho de zona aprovadas pela FDA e emitidas por fabricantes de fármacos, não incluídas no M100-S21 (M2-A10) do CLSI.<sup>7</sup>
- g Foi designada outra *E. coli* (ATCC 35218) para controlo de qualidade de discos contendo combinações de β-lactâmicos e inibidores das β-lactamases. Esta estirpe produz uma β-lactamase que deverá ser inativada pelo inibidor. Quando usada em conjunto com a ATCC 25922, é possível monitorizar os dois componentes dos discos da combinação. Os limites de controlo desta estirpe para amoxicilina/ácido clavulânico são 17 – 22 mm, para ampicilina é 6 mm (ou seja, sem zona), para ampicilina/sulbactam são 13 – 19 mm, para piperacilina são 12 – 18 mm, para piperacilina/tazobactam são 24 – 30 mm para ticarcilina é 6 mm (ou seja, sem zona), para ticarcilina/ácido clavulânico são 21 – 25 mm. A estirpe de controlo *E. coli* ATCC 35218 contém uma β-lactamase codificada por plasmídeos (não ESBL); deste modo, o microrganismo é resistente a muitos fármacos lábeis à penicilase, mas sensível a combinações de inibidores de β-lactamases/β-lactâmicos. O plasmídeo deve estar presente na estirpe de controlo para o teste de controlo de qualidade ser válido; contudo, o plasmídeo pode perder-se durante o armazenamento à temperatura de refrigeração ou de congelação. Consultar “Limitações do Procedimento” e M2 para mais detalhes.
- h Os isolados de pneumococos com tamanhos de zona de oxacilina ≥ 20 mm são sensíveis (CIM ≤ 0,06 µg/mL) à penicilina e podem ser considerados sensíveis à ampicilina, amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina/sulbactam, cefaclor, cefdinir, cefepime, cefetamet, cefixime, cefotaxime, cefprozil, ceftibuten, ceftriaxone, cefuroxime, cefpodoxime, ceftizoxime, ertapenem, imipenem, loracarbef e meropenem para as indicações aprovadas, não sendo necessário testar estes agentes. Deverão determinar-se as CIMs para penicilina e cefotaxime ou ceftriaxone ou meropenem para os isolados com tamanhos de zona de oxacilina ≤ 19 mm, porque se registam zonas ≤ 19 mm com estirpes resistentes à penicilina, com resistência intermédia à penicilina ou com algumas estirpes sensíveis à penicilina. Os isolados não deverão ser reportados como resistentes à penicilina ou como tendo resistência intermédia apenas com base numa zona de oxacilina ≤ 19 mm. Poderá usar-se amoxicilina, ampicilina, cefepima, cefotaxima, ceftriaxona, cefuroxíma, ertapenem, imipenem e meropenem no tratamento de infeções a pneumococos; todavia, não se encontram ainda disponíveis testes fiáveis de sensibilidade por difusão em disco para estes agentes. A melhor forma para determinar a sua actividade *in vitro* reside na utilização de um método de CIM. A penicilina e a cefotaxima ou ceftriaxona ou meropenem deverão ser testados com um método de CIM fiável (como o descrito no documento M7<sup>9</sup> do CLSI) e reportados por rotina com isolados de LCR de *S. pneumoniae*. Estes isolados também deverão ser testados contra vancomicina utilizando a CIM ou o método do disco. Com isolados de outros locais, pode ser utilizado o teste de rastreio de disco de oxacilina. Se a dimensão da zona de oxacilina for ≤ 19 mm, deverão ser determinadas as CIM da penicilina e cefotaxima ou ceftriaxona. Para determinar a sensibilidade de estreptococos que não o *S. pneumoniae* a cefdinir, usar o disco de penicilina de 10 unidades; isolados com dimensões de zona de penicilina ≥ 28 mm são sensíveis à penicilina e podem ser considerados como sensíveis a cefdinir.
- i Um isolado estreptocócico sensível à penicilina pode ser considerado sensível à ampicilina, amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina/sulbactam, cefaclor, cefazolina, cefdinir, cefepima, cefprozil, cefotaxima, ceftibuten (apenas estreptococos do grupo A), ceftriaxona, cefuroxíma, cefpodoxíma, ceftizoxíma, cefalotina, cefapirina, cefradina, imipenem, loracarbef e meropenem para as indicações aprovadas, não sendo necessário o seu teste contra estes agentes. Estreptococos virídans isolados a partir de sangue e locais do organismo habitualmente estéreis (por exemplo, líquido cefalorraquidiano, sangue, osso, etc.) deverão ser testados relativamente à sua sensibilidade à penicilina ou ampicilina recorrendo a um método de CIM.
- j Os estafilococos sensíveis à penicilina também são sensíveis a outras penicilinas, combinações de inibidores de β-lactamases/β-lactâmicos, cefemes e carbapenems aprovadas pela FDA para uso em infeções estafilocócicas. As estirpes resistentes à penicilina e sensíveis à oxacilina são resistentes às penicilinas lábeis à penicilase, mas sensíveis a outras penicilinas estáveis à penicilase, combinações de inibidores de β-lactamases/β-lactâmicos, cefemes relevantes e carbapenems. Os estafilococos resistentes à oxacilina são resistentes a todos os antibióticos β-lactâmicos actualmente disponíveis. Por conseguinte, é possível deduzir a sensibilidade ou resistência a uma ampla variedade de antibióticos β-lactâmicos a partir de testes efectuados apenas com penicilina e oxacilina. Não se aconselham testes de rotina com outras penicilinas, combinações de inibidores de β-lactamases/β-lactâmicos, cefemes e carbapenems.<sup>7</sup> Para estafilococos resistentes à oxacilina, reportar como resistente ou não reportar.
- k As estirpes de *Haemophilus influenzae* negativas para as β-lactamases e resistentes à ampicilina (NBLRA), raras, deverão ser consideradas como resistentes a amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina/sulbactam, cefaclor, cefetamet, cefonicid, cefprozil, cefuroxime e loracarbef, apesar da aparente sensibilidade *in vitro* de algumas estirpes NBLRA a estes agentes.
- l Representante da classe para a ampicilina e amoxicilina.
- m No caso do *V. cholerae*, os resultados dos testes de difusão em disco para ampicilina, tetraciclina, trimetoprim/sulfametoxazol e sulfonamidas (ou seja, a percentagem de microrganismos sensíveis, intermédios e resistentes) apresentam uma boa correlação com os resultados determinados por microdiluição de caldo. Podem usar-se os resultados referentes à tetraciclina para prever a provável sensibilidade dos isolados à doxiciclina; não usar o teste de disco para a doxiciclina ou eritromicina porque existe uma má correlação com os resultados da CIM.
- n A ampicilina é o representante da classe para a ampicilina e amoxicilina. Podem usar-se os resultados referentes à ampicilina para prever a sensibilidade a amoxicilina/ácido clavulânico, ampicilina/sulbactam, piperacilina e piperacilina/tazobactam entre enterococos não produtores de β-lactamases. Os enterococos sensíveis à penicilina são previsivelmente sensíveis à ampicilina, amoxicilina, ampicilina/sulbactam, amoxicilina/ácido clavulânico, piperacilina e piperacilina/tazobactam para enterococos não produtores de β-lactamases. Contudo, não se pode assumir que os enterococos sensíveis à ampicilina sejam sensíveis à penicilina. Se forem necessários resultados para a penicilina, deverão realizar-se testes para a penicilina. Dado não ser possível detectar, de forma fiável, uma resistência à ampicilina ou penicilina entre enterococos por produto de β-lactamases utilizando métodos de rotina de disco ou métodos de diluição, recomenda-se um teste directo para as β-lactamases, baseado na nitrocefina, para isolados de sangue e de líquido cefalorraquidiano. Um teste positivo para as β-lactamases prevê resistência à penicilina, bem como às acilaminopenicilinas, carboxipenicilinas e ureidopenicilinas. Alguns enterococos resistentes à penicilina e ampicilina podem apresentar uma resistência de alto nível (ou seja, CIM para a penicilina ≥ 128 µg/mL ou CIM para a ampicilina ≥ 64 µg/mL). O teste de disco não irá diferenciar os microrganismos com resistência normal dos que apresentam resistência de alto nível. Para enterococos colhidos em amostras de sangue e de LCR, o laboratório deverá considerar a determinação da CIM actual para a penicilina ou ampicilina, dado que estirpes enterocóicas com resistência normal de baixo nível (CIM para a penicilina ≤ 64 µg/mL e CIM para a ampicilina ≤ 32 µg/mL) deverão ser consideradas como potencialmente sensíveis à sinergia com um aminoglicosídeo (na ausência de resistência de alto nível a aminoglicosídeos), enquanto que estirpes com resistência de nível mais elevado se podem revelar resistentes a esta sinergia.<sup>6</sup>
- o É possível prever a sinergia entre ampicilina, penicilina ou vancomicina e um aminoglicosídeo para enterococos usando um teste de rastreio de aminoglicosídeos de alto nível (gentamicina e estreptomícina). Não é necessário testar outros aminoglicosídeos porque a sua actividade contra enterococos não é superior à de gentamicina e estreptomícina.
- p Deverão usar-se os resultados dos testes de sensibilidade à ampicilina para prever a actividade de amoxicilina. A maioria dos isolados de *H. influenzae* resistentes a ampicilina e amoxicilina produz uma β-lactamase do tipo TEM. Na maioria dos casos, um teste directo para as β-lactamases pode constituir uma forma rápida para detectar resistência à ampicilina e amoxicilina.
- q Pode ser participado para *Acinetobacter* spp. resistente a outros agentes.
- r Não é participado por rotina em isolados do aparelho urinário.
- s É possível prever a sensibilidade e resistência à azitromicina, claritromicina e diritromicina usando eritromicina.

- t Ver a discussão das ESBL em “RESULTADOS”. Para testes de rastreio e confirmação para ESBL em *Klebsiella pneumoniae*, *K. oxitoca* e *E. coli*, consultar a secção de “RESULTADOS” e a referência 7. Os pontos de ruptura do rastreio (agar de Mueller Hinton, procedimento da difusão de disco padrão, 35°C ± 2°C, ar ambiente, 16 – 18 h) são: aztreonam (≤ 27 mm), ceftazidima (≤ 22 mm), cefotaxima (≤ 27 mm), cefpodoxíma (≤ 17 mm) e ceftriaxona (≤ 25 mm). As recomendações de controlo de qualidade são *E. coli* ATCC 25922 (conforme enumerado no quadro); *K. pneumoniae* ATCC 700603 (aztreonam 9 – 17 mm), ceftazidima (10 – 18 mm), cefotaxima (17 – 25 mm), cefpodoxíma (9 – 16 mm) e ceftriaxona (16 – 24 mm).<sup>7</sup> A utilização de mais do que um agente antimicrobiano no rastreio melhora a sensibilidade da detecção. O teste de confirmação fenotípica requer a utilização de cefotaxime e ceftazidima, isolados e em combinação com ácido clavulânico. Um diâmetro de zona ≥ 5 mm para qualquer agente antimicrobiano testado em combinação com ácido clavulânico versus a sua zona quando testado isoladamente = ESBL. As recomendações de controlo de qualidade são: estirpe de *E. coli* ATCC 25922 negativa que produz um aumento ≤ 2 mm do diâmetro da zona para o agente antimicrobiano testado isoladamente contra o seu diâmetro da zona quando testado em combinação com ácido clavulânico; estirpe *K. pneumoniae* ATCC 700603 positiva que produz um aumento ≥ 3 mm do diâmetro da zona para cefotaxima e um aumento ≥ 5 mm do diâmetro da zona para ceftazidima. Ver “Limitações do Procedimento”. Ver a referência 7 para pormenores sobre o procedimento.
- u Poderá usar-se cefalotina para prever a actividade de cefalotina, cefapirina, cefradina, cefalexina, cefaclor e cefadroxil. Cefazolina, cefuroxime, cefpodoxime, cefprozil e loracarbef (exclusivamente isolados urinários) podem ser testados individualmente porque alguns isolados podem ser sensíveis a estes agentes quando resistentes a cefalotina.
- v Não aplicável para testar *Morganella* spp.
- w No caso de *N. gonorrhoeae*, um resultado intermédio para um agente antimicrobiano indica um problema técnico, que deverá ser solucionado por repetição do teste, ou ausência de experiência clínica no tratamento de microrganismos com este agente. Este último parece ser o caso para cefmetazole, cefotetan, cefoxitina e espectinomícina. Estirpes apresentando zonas de resistência intermédia com os outros agentes possuem uma taxa baixa de cura clínica documentada (85 – 95%) comparativamente com >95% para estirpes sensíveis.
- x Nos isolados obtidos a partir de líquido cefalorraquidiano, devem ser testados e apresentados os resultados referentes à cefotaxima, ceftizoxíma ou ceftriaxona, em vez da cefalotina e cefazolina.
- y Em virtude de se ter participado que algumas estirpes de *Providencia* spp. produzem resultados de sensibilidade falsos com discos de cefprozil, não se deverão testar nem participar resultados referentes a estirpes deste género com os discos em questão.
- z Indicado exclusivamente para isolados de urina. Para além da realização de testes a isolados da urina, poder-se-á utilizar o ácido nalidíxico para testar a sensibilidade reduzida à fluoroquinolona em isolados obtidos de doentes com infeções de *Salmonella* extra-intestinais. Consultar a nota de rodapé ddd.

- aa Diâmetros de zona aprovados pela FDA, para os critérios interpretativos e/ou de controlo de qualidade que diferem das recomendações do CLSI.
- bb No caso do *V. cholerae*, deverá usar-se de precaução, dado que o teste de difusão em disco pode classificar erradamente muitos microrganismos (taxa elevada de erros minor).
- cc Não se estabeleceram quaisquer critérios para apoiar o teste deste fármaco com *Streptococcus pneumoniae*. O intervalo de controlo encontra-se listado apenas para fins de controlo de qualidade.
- dd Colistina e polimixina B apresentam uma fraca difusão em agar, pelo que a precisão do método de difusão é inferior à obtida com outros antibióticos. A resistência é sempre significativa, mas quando se considera o tratamento de infeções sistémicas provocadas por estirpes sensíveis é importante confirmar os resultados obtidos num teste de difusão com os provenientes de um método de diluição.
- ee Os organismos sensíveis à tetraciclina são também considerados sensíveis à doxiciclina e minociclina. No entanto, alguns microrganismos de resistência intermédia ou resistentes à tetraciclina poderão ser sensíveis à doxiciclina ou minociclina ou a ambas.
- ff Aprovado pela FDA para *S. saprophyticus* e *S. epidermidis* (não para *S. aureus*).
- gg Relativamente aos limites de controlo do disco de 120 µg de gentamicina e do disco de 300 µg de estreptomícina, utilizar *E. faecalis* ATCC 29212 (gentamicina: 16 – 23<sup>ii</sup> mm; estreptomícina: 14 – 20<sup>ii</sup> mm).
- hh Se a zona for 7 – 9 mm, o teste é inconclusivo, devendo efectuar-se um teste de rastreio com diluição em agar ou microdiluição em caldo para confirmar a resistência.
- ii Dimensões de zona recomendadas pelo CLSI que diferem das recomendações de dimensões de zona aprovadas pela FDA.
- jj Não se estabeleceram quaisquer critérios para apoiar o teste deste fármaco com *H. influenzae*. O intervalo de controlo encontra-se listado apenas para fins de controlo de qualidade.
- kk Em virtude de se ter participado que algumas estirpes de *Citrobacter*, *Providencia* e *Enterobacter* spp. produzem resultados de sensibilidade falsos com discos de cefdinir e loracarbef, não se deverão testar nem participar resultados referentes a estirpes deste género com os discos em questão.
- ll Aprovado pela FDA para *K. pneumoniae*.
- mm Não se encontram estabelecidos quaisquer critérios para apoiar o teste deste fármaco com *Pseudomonas aeruginosa*. O intervalo de controlo encontra-se listado apenas para fins de controlo de qualidade.
- nn Se for testada uma penicilina estável à penicilinase, a oxacilina é o agente preferido e os resultados podem ser aplicados a outras penicilinas estáveis à penicilinase, cloxacilina, dicloxacilina, flucloxacilina, meticilina e nafcilina. Prefere-se oxacilina, dado que é mais resistente à degradação durante o armazenamento e dado que apresenta maior probabilidade de detectar estirpes de estafilococos hetero-resistentes. Não se deverão usar discos de cloxacilina porque estes poderão não detectar *S. aureus* resistentes à oxacilina. A cefoxitina poderá ser testada em vez da oxacilina (ver M100-S21). Após incubação durante 24 h, analisar relativamente à existência de crescimento discreto dentro da zona de inibição do disco de oxacilina, recorrendo à luz transmitida (placa virada para a luz). Qualquer crescimento detectável dentro da zona de inibição é indicativo de resistência à oxacilina.
- oo Caso se obtenham resultados intermédios de resistência à oxacilina para *S. aureus*, efectuar testes para mecA ou PBP 2a, o teste de disco de cefoxitina, um teste de CIM para a oxacilina ou o teste de rastreio em agar salgado com oxacilina. Apresentar os resultados do teste alternativo em vez do resultado intermédio.
- pp Estirpes de *Staphylococcus aureus* resistentes à penicilina e sensíveis à oxacilina produzem β-lactamases, e neste caso é preferível recorrer ao teste do disco de penicilina de 10 unidades em vez do disco de ampicilina. Deverá usar-se penicilina para testar a sensibilidade de todas as penicilinas lábeis às β-lactamases, tais como ampicilina, amoxicilina, azlocilina, carbenicilina, mezlocilina, piperacilina e ticarcilina. Analogamente, um teste positivo para as β-lactamases prevê resistência a estes agentes.<sup>6</sup> Para estafilococos resistentes à oxacilina, reportar como resistente ou não reportar.
- qq Um teste positivo para as β-lactamases faz prever resistência à penicilina, ampicilina e amoxicilina. Um teste para as β-lactamases irá detectar uma forma de resistência à penicilina de *N. gonorrhoeae*, podendo ainda ser usado para facultar informações epidemiológicas. Estirpes com resistência mediada por cromossomas só podem ser detectadas recorrendo a testes de sensibilidade adicionais, tais como o método de difusão em disco ou o método de CIM de diluição em agar. É provável que gonococos apresentando diâmetros de zona de teste de penicilina de 10 unidades ≤ 19 mm sejam estirpes produtoras de β-lactamases. Todavia, o teste para as β-lactamases continua a ser preferível a outros métodos de sensibilidade, permitindo um reconhecimento rápido e preciso desta forma de resistência à penicilina mediada por plasmídeos.
- rr Raramente é necessário efectuar testes de sensibilidade de *S. pyogenes* à penicilina, dado que este microrganismo se mantém universalmente sensível à penicilina. Todavia, algumas estirpes de *S. agalactiae* podem produzir resultados de resistência intermédia à penicilina.<sup>7</sup>
- ss A Tigeclina apresenta uma diminuição da actividade *in vitro* contra *Morganella* spp., *Proteus* spp. e *Providencia* spp.
- tt O disco de sulfisoxazole pode ser usado para representar qualquer das sulfonamidas actualmente disponíveis. Os meios contendo sangue (à excepção de sangue de cavalo hemolisado) não são habitualmente adequados para testar sulfonamidas ou trimetoprim. Por conseguinte, quando se preconizam testes com sulfonamidas e/ou trimetoprim, o agar de Mueller Hinton deverá estar o mais isento possível de timidina. Para determinar se o agar de Mueller Hinton apresenta níveis suficientemente baixos de timina e timidina, poderão testar-se *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 ou ATCC 33186 com o disco de trimetoprim-sulfametoxazol (consultar a ref. 13). Uma zona de inibição ≥ 20 mm praticamente isenta de colónias indica um nível suficientemente baixo de timina e timidina.<sup>6</sup>
- uu Gonococos com diâmetros de zona do disco de 30 µg de tetraciclina ≤ 19 mm indicam habitualmente um isolado de *N. gonorrhoeae* com resistência à tetraciclina mediada por plasmídeos (NGRT). Estas estirpes deverão ser confirmadas mediante um teste de diluição (CIM ≥ 16 µg/mL) e/ou recorrendo a um laboratório de saúde pública para estudo epidemiológico.
- vv Todos os isolados de estafilococos com diâmetros de zona de 14 mm ou inferior deverão ser testados recorrendo a um método de CIM de referência. O procedimento de difusão em disco não irá diferenciar estirpes com sensibilidade reduzida à vancomicina (CIMs de 4 a

8 µg/mL) de estirpes sensíveis (CIM de 0,5 a 2 µg/mL), mesmo quando incubadas 24 h. Adicionalmente, estirpes de *S. aureus* resistentes à vancomicina (VRSA) (CIM ≥ 16 µg/mL) podem produzir apenas um crescimento subtil em torno de um disco de vancomicina. Poderá usar-se o teste da placa de agar de vancomicina descrito para os enterococos (Agar Infusão de Coração-Cérebro com 6 µg/mL de vancomicina) para aumentar a sensibilidade de detecção de estirpes de *S. aureus* com resistência intermédia à vancomicina ou resistentes à vancomicina, incubando as placas durante 24 h a 35°C.<sup>6</sup> A utilização de uma estirpe de controlo de qualidade sensível, como *E. faecalis* ATCC 29212, é essencial para garantir a especificidade. Poderá usar-se *E. faecalis* ATCC 51299 como controlo positivo (ou seja, resistente). Até que se disponham de dados adicionais sobre a prevalência ou significado clínico destes isolados, os laboratórios poderão optar por analisar estirpes de MRSA mais cuidadosamente relativamente à existência de CIMs elevadas para a vancomicina.<sup>6</sup> Actualmente, não estão disponíveis dados suficientes para recomendar a utilização deste teste de rastreio em agar no caso de estafilococos negativos para coagulase. Quaisquer estafilococos que revelem uma CIM elevada à vancomicina (≥ 4 µg/mL) deverão ser enviados para um laboratório de referência.

- vwv Quando se testar a sensibilidade de enterococos à vancomicina, as placas deverão repousar durante um período de 24 h e ser analisadas com luz transmitida; a presença de uma névoa ou de qualquer sinal de crescimento dentro da zona de inibição indica resistência. Microrganismos com zonas intermédias deverão ser testados recorrendo a um método de CIM, conforme descrito no documento M7 do CLSI. Consultar também o teste de placa de agar com vancomicina descrito no Quadro 2D da CIM (M100-S21).<sup>9</sup>
- xx Não se observou qualquer estirpe de *S. pneumoniae* com um diâmetro de zona de inibição com vancomicina < 17 mm; estas estirpes deverão ser enviadas para um laboratório de referência.<sup>7</sup>
- yy Em virtude das alternativas serem limitadas, poderá usar-se cloranfenicol, eritromicina, tetraciclina (ou doxiciclina ou minociclina) e rifampicina para enterococos resistentes à vancomicina (ERV), recomendando-se a consulta a um médico especialista em doenças infecciosas.<sup>7</sup>
- zz Não se estabeleceram quaisquer critérios para apoiar o teste deste fármaco com *N. gonorrhoeae*. O intervalo de controlo encontra-se listado apenas para fins de controlo de qualidade.
- aaa Não foram observadas estirpes de estreptococos β-hemolíticos com diâmetros de zonas de ampicilina, cefepima, cefotaxima, ceftriaxona ou penicilina inferiores a 24 mm; submeter tais estirpes a um laboratório de referência.
- bbb A deterioração do conteúdo do disco de oxacilina é melhor avaliada com *S. aureus* ATCC 25923, com um diâmetro de zona aceitável de 18 – 24 mm.
- ccc Para ampicilina, cefepima, cefotaxima, ceftriaxona e penicilina, **estreptococos β-hemolíticos** apenas incluem as estirpes piogénicas formadoras de grandes colónias de estreptococos com antígenos do grupo A (*S. pyogenes*), C ou G e estirpes com antígeno do grupo B (*S. agalactiae*). Para cefepima, cefotaxima e ceftriaxona, **estreptococos virídans** incluem as estirpes β-hemolíticas formadoras de pequenas colónias com antígenos do grupo A, C, F ou G (*S. anginosus*, anteriormente denominado *S. milleri*), bem como *S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. salivarius*, *S. intermedius*, *S. constellatus*, *S. mutans* e *S. bovis*.
- ddd Os resultados de teste de resistência positiva ao ácido nalidíxico de estirpes de *Salmonella* sensíveis à fluoroquinolona, podem estar associados a falha clínica ou resposta atrasada em doentes com salmonelose extra-intestinal tratados com fluoroquinolona. Os isolados de *Salmonella* extra-intestinal deverão igualmente ser testados quanto à sua resistência ao ácido nalidíxico. No caso de isolados cujo teste revele sensibilidade às fluoroquinolonas e resistência ao ácido nalidíxico, o médico deverá ser informado de que o isolado poderá não ser erradicado pelo tratamento com fluoroquinolona. Recomenda-se a consulta a um médico especialista em doenças infecciosas.
- eee Não se estabeleceram quaisquer critérios para apoiar o teste deste fármaco com *S. aureus*. O intervalo de controlo encontra-se listado apenas para fins de controlo de qualidade.

**BIBLIOGRAFIA:** Consulte “References” no texto em Inglês.

Somente para uso diagnóstico <i>in vitro</i>
Registado no Brasil por: <p>Becton Dickinson Indústrias Cirúrgicas Ltda Av. Presidente Juscelino Kubitschek, 273 Juiz de Fora-MG-Brasil CNPJ 21.551.379/0001-06 Registro ANVISA nº 10033430525 Centro de Relacionamento com o Cliente: 0800 0555654</p>

**IVD** In Vitro Diagnostic Medical Device



Temperature limitation



Catalog number



Consult Instructions for Use



Authorized Representative in the European Community



Batch Code (Lot)



Manufacturer



Use by YYYY-MM-DD / YYYY-MM (MM = end of month)



Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, MD 21152 USA
800-638-8663
www.bd.com/ds



Benex Limited
Rineanna House
Shannon Free Zone
Shannon, County Clare, Ireland

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.
Prompt is a trademark of 3M.

BD, BD Logo and all other trademarks are property of Becton, Dickinson and Company. © 2011 BD.



# SAFETY DATA SHEET

Issuing Date 03-Jul-2019

Revision Date 06-Mar-2020

Revision Number 2

## 1. IDENTIFICATION OF THE SUBSTANCE/PREPARATION AND OF THE COMPANY/UNDERTAKING

### Product identifier

**Product Name** Clorox® Disinfecting Bleach

### Other means of identification

**UN-No.** UN1791

**Synonyms** NONE

**EPA Pesticide registration number** 5813-120

### Recommended use of the chemical and restrictions on use

**Recommended Use** Bleach

**Uses advised against** No information available

### Details of the supplier of the safety data sheet

**Supplier** The Clorox Company

**Supplier Address** 1221 Broadway  
Oakland  
CA  
94612  
US

**Telephone** 1-510-271-7000

### Emergency telephone number

**Emergency Telephone Number** For Medical Emergencies call: 1-800-446-1014. Transportation Emergencies, call Chemtrec: 1-800-424-9300

## 2. HAZARDS IDENTIFICATION

### Classification

This chemical is considered hazardous by the 2012 OSHA Hazard Communication Standard (29 CFR 1910.1200).

Skin corrosion/irritation	Category 1 Sub-category C
Serious eye damage/eye irritation	Category 1

### GHS Label elements, including precautionary statements

#### Emergency Overview

**Signal word** Danger

### Hazard Statements

Causes severe skin burns and eye damage



**Appearance** Clear to yellow

**Physical state** Liquid

**Odor** Bleach

**Precautionary Statements - Prevention**

Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapors/spray  
 Wash face, hands and any exposed skin thoroughly after handling  
 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection

**Precautionary Statements - Response**

Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician  
 Specific treatment is urgent (see supplemental first aid instructions on this label)

**Eyes**

IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing  
 Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician

**Skin**

IF ON SKIN (or hair): Remove/Take off immediately all contaminated clothing. Rinse skin with water/shower  
 Wash contaminated clothing before reuse

**Inhalation**

IF INHALED: Remove victim to fresh air and keep at rest in a position comfortable for breathing  
 Immediately call a POISON CENTER or doctor/physician

**Ingestion**

IF SWALLOWED: Rinse mouth. DO NOT induce vomiting

**Precautionary Statements - Storage**

Store locked up

**Precautionary Statements - Disposal**

Dispose of contents/container to an approved waste disposal plant

**Hazards not otherwise classified (HNOC)**

Not applicable

**Unknown Toxicity**

No information available

**Other information**

No information available

**Interactions with Other Chemicals**

No information available.

**3. COMPOSITION/INFORMATION ON INGREDIENTS**

Chemical Name	CAS-No	Weight-%	Trade Secret
Sodium hypochlorite	7681-52-9	4 - 9	*

\*The exact percentage (concentration) of composition has been withheld as a trade secret

## 4. FIRST AID MEASURES

### First aid measures

<b>General Advice</b>	Immediate medical attention is required. Show this safety data sheet to the doctor in attendance.
<b>Eye contact</b>	Rinse immediately with plenty of water, also under the eyelids, for at least 15 minutes. Keep eye wide open while rinsing. Do not rub affected area. Seek immediate medical attention/advice.
<b>Skin contact</b>	Wash off immediately with soap and plenty of water while removing all contaminated clothes and shoes. Immediate medical attention is required.
<b>Inhalation</b>	Remove to fresh air. If symptoms persist, call a physician. If breathing has stopped, give artificial respiration. Get medical attention immediately.
<b>Ingestion</b>	Do NOT induce vomiting. Rinse mouth immediately and drink plenty of water. Never give anything by mouth to an unconscious person. Immediate medical attention is required.
<b>Self-protection of the first aider</b>	Use personal protective equipment as required. Ensure that medical personnel are aware of the material(s) involved, take precautions to protect themselves and prevent spread of contamination.

### Most important symptoms and effects, both acute and delayed

**Most Important Symptoms and Effects** Burning.

### Indication of any immediate medical attention and special treatment needed

**Notes to Physician** Treat symptomatically. Product is a corrosive material. Use of gastric lavage or emesis is contraindicated. Possible perforation of stomach or esophagus should be investigated. Do not give chemical antidotes. Asphyxia from glottal edema may occur. Marked decrease in blood pressure may occur with moist rales, frothy sputum, and high pulse pressure.

## 5. FIRE-FIGHTING MEASURES

### Suitable Extinguishing Media

Use extinguishing measures that are appropriate to local circumstances and the surrounding environment

### Unsuitable extinguishing media

CAUTION: Use of water spray when fighting fire may be inefficient.

### Specific hazards arising from the chemical

The product causes burns of eyes, skin and mucous membranes. Thermal decomposition can lead to release of irritating gases and vapors.

### Explosion Data

**Sensitivity to Mechanical Impact** No.

**Sensitivity to Static Discharge** No.

### Protective equipment and precautions for firefighters

As in any fire, wear self-contained breathing apparatus pressure-demand, MSHA/NIOSH (approved or equivalent) and full protective gear.

## 6. ACCIDENTAL RELEASE MEASURES

**Personal precautions, protective equipment and emergency procedures**

**Personal precautions** Avoid contact with skin, eyes and inhalation of vapors. Attention! Corrosive material. Ensure adequate ventilation. Use personal protective equipment as required.

**Other Information** Refer to protective measures listed in Sections 7 and 8.

**Environmental precautions**

**Environmental precautions** Refer to protective measures listed in Sections 7 and 8. Prevent further leakage or spillage if safe to do so. Should not be released into the environment. Do not allow to enter into soil/subsoil. Prevent product from entering drains.

**Methods and material for containment and cleaning up**

**Methods for containment** Prevent further leakage or spillage if safe to do so.

**Methods for cleaning up** Pick up and transfer to properly labeled containers.

## 7. HANDLING AND STORAGE

**Precautions for safe handling**

**Handling** Handle in accordance with good industrial hygiene and safety practice. Avoid contact with skin, eyes or clothing. In case of insufficient ventilation, wear suitable respiratory equipment. Do not eat, drink or smoke when using this product. Take off contaminated clothing and wash before reuse.

**Conditions for safe storage, including any incompatibilities**

**Storage** Keep containers tightly closed in a dry, cool and well-ventilated place. Protect from moisture. Store locked up. Keep out of the reach of children. Store away from other materials.

**Incompatible products** Strong acids. Strong bases. Acids. Bases. Oxidizing agent. Strong oxidizing agents.

## 8. EXPOSURE CONTROLS/PERSONAL PROTECTION

**Control parameters**

**Exposure Guidelines** This product, as supplied, does not contain any hazardous materials with occupational exposure limits established by the region specific regulatory bodies

**Appropriate engineering controls**

**Engineering Measures** Showers  
Eyewash stations  
Ventilation systems

**Individual protection measures, such as personal protective equipment**

**Eye/face protection** Wear safety glasses with side shields (or goggles).

**Skin and body protection** Wear protective gloves and protective clothing. Long sleeved clothing. Chemical resistant apron. Impervious gloves.

**Respiratory protection** If exposure limits are exceeded or irritation is experienced, NIOSH/MSHA approved respiratory protection should be worn. Positive-pressure supplied air respirators may be required for high airborne contaminant concentrations. Respiratory protection must be provided in accordance with current local regulations.

**Hygiene Measures**

Handle in accordance with good industrial hygiene and safety practice. Take off contaminated clothing and wash before reuse. Avoid contact with skin, eyes or clothing. Wear suitable gloves and eye/face protection. Do not eat, drink or smoke when using this product. Contaminated work clothing should not be allowed out of the workplace. Regular cleaning of equipment, work area and clothing is recommended. Wash hands and face before breaks and immediately after handling the product. For environmental protection,

remove and wash all contaminated protective equipment before re-use.

## 9. PHYSICAL AND CHEMICAL PROPERTIES

### Information on basic physical and chemical properties

<b>Physical state</b>	Liquid	<b>Odor</b>	Bleach
<b>Appearance</b>	Clear to yellow	<b>Odor Threshold</b>	No information available
<b>Color</b>	Light yellow		

<u>Property</u>	<u>Values</u>	<u>Remarks</u>	<u>Method</u>
pH	11.8 - 12.4	None known	
Melting / freezing point	No data available	None known	
Boiling point / boiling range	No data available	None known	
Flash Point	No data available	None known	
Evaporation Rate	No data available	None known	
Flammability (solid, gas)	No data available	None known	
Flammability Limit in Air			
Upper flammability limit	No data available		
Lower flammability limit	No data available		
Vapor pressure	No data available	None known	
Vapor density	No data available	None known	
Specific Gravity	1.1	None known	
Water Solubility	Soluble in water	None known	
Solubility in other solvents	No data available	None known	
Partition coefficient: n-octanol/water	No data available	None known	
Autoignition temperature	No data available	None known	
Decomposition temperature	No data available	None known	
Kinematic viscosity	No data available	None known	
Dynamic viscosity	No data available	None known	
Explosive properties	No data available		
Oxidizing properties	No data available		

### Other Information

Softening Point	No data available
VOC Content (%)	No data available
Particle Size	No data available
Particle Size Distribution	No data available

## 10. STABILITY AND REACTIVITY

### Reactivity

No data available

### Chemical stability

Stable under recommended storage conditions.

### Possibility of Hazardous Reactions

None under normal processing.

### Hazardous Polymerization

Hazardous polymerization does not occur.

### Conditions to avoid

Exposure to air or moisture over prolonged periods.

### Incompatible materials

Strong oxidizing agents, strong acids, and strong bases Strong acids. Strong bases. Acids. Bases. Oxidizing agent. Strong oxidizing agents.

**Hazardous Decomposition Products**

Carbon oxides.

**11. TOXICOLOGICAL INFORMATION**

**Information on likely routes of exposure**

**Product Information**

<b>Inhalation</b>	May cause irritation of respiratory tract. May cause pulmonary edema.
<b>Eye contact</b>	Corrosive to the eyes and may cause severe damage including blindness. Causes serious eye damage.
<b>Skin contact</b>	Avoid contact with skin. Corrosive. Causes burns.
<b>Ingestion</b>	Ingestion causes burns of the upper digestive and respiratory tracts. Ingestion may cause gastrointestinal irritation, nausea, vomiting and diarrhea.

**Component Information**

Chemical Name	LD50 Oral	LD50 Dermal	Inhalation LC50
Sodium hypochlorite 7681-52-9	8200 mg/kg (Rat)	>10000 mg/kg (Rabbit)	-

**Information on toxicological effects**

**Symptoms** Erythema (skin redness). Burning. May cause blindness. Coughing and/ or wheezing.

**Delayed and immediate effects as well as chronic effects from short and long-term exposure**

**Sensitization** No information available.

**Mutagenic Effects** No information available.

**Carcinogenicity** The table below indicates whether each agency has listed any ingredient as a carcinogen.

Component	ACGIH	IARC	NTP	OSHA
Sodium hypochlorite 7681-52-9 ( 4 - 9 )	-	Group 3	-	-

*IARC (International Agency for Research on Cancer)  
Group 3 - Not Classifiable as to Carcinogenicity in Humans*

**Reproductive toxicity** No information available.

**STOT - single exposure** No information available.

**STOT - repeated exposure** No information available.

**Chronic Toxicity** Carcinogenic potential is unknown.

**Target Organ Effects** Respiratory system. Eyes. Skin. Gastrointestinal tract (GI).

**Aspiration Hazard** No information available.

**Numerical measures of toxicity Product Information**

The following values are calculated based on chapter 3.1 of the GHS document

Not applicable

**ATEmix (oral)**

53,480.00 mg/kg

**ATEmix (inhalation-dust/mist)**

58.30 mg/l



**12. ECOLOGICAL INFORMATION**

This product contains a chemical which is listed as a marine pollutant according to DOT

**Ecotoxicity**

Harmful to aquatic life. Very toxic to aquatic life with long lasting effects.

**Persistence and Degradability**

No information available.

**Bioaccumulation**

No information available

**Other adverse effects**

No information available.

**13. DISPOSAL CONSIDERATIONS**

**Waste treatment methods**

**Disposal methods**

Dispose of in accordance with federal, state and local regulations.

**Contaminated Packaging**

Do not reuse empty containers. Dispose of in accordance with federal, state and local regulations.

**14. TRANSPORT INFORMATION**

**DOT**

<b>UN-No.</b>	UN1791
<b>Proper Shipping Name</b>	Hypochlorite Solutions
<b>Hazard Class</b>	8
<b>Packing Group</b>	III
<b>Marine Pollutant</b>	This product contains a chemical which is listed as a marine pollutant according to DOT
<b>Description</b>	Limited Quantity (LTD QTY)

**TDG**

<b>UN Number</b>	UN1791
<b>Proper Shipping Name</b>	Hypochlorite Solutions
<b>Hazard Class</b>	8
<b>Packing Group</b>	III
<b>Marine Pollutant</b>	This product contains a chemical which is listed as a marine pollutant according to TDG.

**ICAO**

<b>UN-No.</b>	UN1791
<b>Proper Shipping Name</b>	Hypochlorite Solutions
<b>Hazard Class</b>	8
<b>Packing Group</b>	III

**IATA**

<b>UN Number</b>	UN1791
<b>Proper Shipping Name</b>	Hypochlorite Solutions
<b>Hazard Class</b>	8
<b>Packing Group</b>	III

**IMDG**

**UN Number** UN1791  
**Proper Shipping Name** Hypochlorite Solutions  
**Hazard Class** 8  
**Packing Group** III  
**Marine Pollutant** This product contains a chemical which is listed as a marine pollutant according to IMDG/IMO

**15. REGULATORY INFORMATION**

**International Inventories**

TSCA Complies  
 DSL All components are listed either on the DSL or NDSL.

TSCA - United States Toxic Substances Control Act Section 8(b) Inventory  
 DSL/NDSL - Canadian Domestic Substances List/Non-Domestic Substances List

**US Federal Regulations**

**SARA 313**

Section 313 of Title III of the Superfund Amendments and Reauthorization Act of 1986 (SARA). This product does not contain any chemicals which are subject to the reporting requirements of the Act and Title 40 of the Code of Federal Regulations, Part 372

**SARA 311/312 Hazard Categories**

**Acute Health Hazard** Yes  
**Chronic Health Hazard** No  
**Fire Hazard** No  
**Sudden release of pressure hazard** No  
**Reactive Hazard** No

**CWA (Clean Water Act)**

This product does not contain any substances regulated as pollutants pursuant to the Clean Water Act (40 CFR 122.21 and 40 CFR 122.42)

Chemical Name	CWA - Reportable Quantities	CWA - Toxic Pollutants	CWA - Priority Pollutants	CWA - Hazardous Substances
Sodium hypochlorite 7681-52-9	100 lb			X

**CERCLA**

This material, as supplied, contains one or more substances regulated as a hazardous substance under the Comprehensive Environmental Response Compensation and Liability Act (CERCLA) (40 CFR 302)

Chemical Name	Hazardous Substances RQs	Extremely Hazardous Substances RQs	RQ
Sodium hypochlorite 7681-52-9	100 lb	-	RQ 100 lb final RQRQ 45.4 kg final RQ

**US State Regulations**

**California Proposition 65**

This product does not contain any Proposition 65 chemicals.

**U.S. State Right-to-Know Regulations**

Chemical Name	New Jersey	Massachusetts	Pennsylvania	Rhode Island	Illinois
Sodium hypochlorite 7681-52-9	X	X	X	X	
Sodium Hydroxide 1310-73-2	X	X	X	X	

**EPA Pesticide Registration No.** 5813-120

**EPA Statement**

This chemical is a pesticide product registered by the Environmental Protection Agency and is subject to certain labeling requirements under federal pesticide law. These requirements differ from the classification criteria and hazard information required for safety data sheets, and for workplace labels of non-pesticide chemicals. Following is the hazard information as required on the pesticide label:

**EPA Pesticide label**

DANGER: CORROSIVE. FIRST AID: IF IN EYES: Hold eye open and rinse slowly and gently with water for 15-20 minutes. Remove contact lenses, if present, after the first 5 minutes, then continue rinsing eye. IF ON SKIN OR CLOTHING: Take off contaminated clothing. Rinse skin immediately with plenty of water for 15-20 minutes. IN EITHER CASE, CALL A POISON CONTROL CENTER OR DOCTOR IMMEDIATELY FOR TREATMENT ADVICE.

**International Regulations**

Canada

WHMIS Hazard Class

Not determined

**16. OTHER INFORMATION**

<b>NFPA</b>	<b>Health Hazards</b> 3	<b>Flammability</b> 0	<b>Instability</b> 0	<b>Physical and Chemical Hazards - Personal Protection</b> X
<b>HMIS</b>	<b>Health Hazards</b> 3	<b>Flammability</b> 0	<b>Physical Hazard</b> 0	

<b>Prepared By</b>	Product Stewardship 23 British American Blvd. Latham, NY 12110 1-800-572-6501
<b>Issuing Date</b>	03-Jul-2019
<b>Revision Date</b>	06-Mar-2020
<b>Revision Note</b>	No information available
<b>Reference</b>	1534511

**Disclaimer**

The information provided in this Safety Data Sheet is correct to the best of our knowledge, information and belief at the date of its publication. The information given is designed only as a guidance for safe handling, use, processing, storage, transportation, disposal and release and is not to be considered a warranty or quality specification. The information relates only to the specific material designated and may not be valid for such material used in combination with any other materials or in any process, unless specified in the text

**End of Safety Data Sheet**