

Кат. No.: 10020282

Для микробиологии

Набор предназначен для определения чувствительности к антибиотикам грамположительных бактерий родов *Enterococcus* и *Streptococcus* (за исключением зеленящих стрептококков и *Streptococcus pneumoniae*) на основе определения бактериального роста при пограничных (break-point) концентрациях антибиотика и рассчитан на 40 культур.

Выбор концентраций антибиотика и интерпретация результатов базируется на европейских стандартах EUCAST (www.eucast.org) от 05.01.2011. Методика включает регидратирование лунок с антибиотиками с помощью суспензионной среды и внесение в них бактериальной суспензии. Результаты чувствительности микроорганизмов роста учитывают через 18-24 ч инкубации визуально или фотометрически по наличию бактериального роста в микролунках планшета.

Мы рекомендуем использовать диско-диффузионный метод или E-тест для определения антибиотикочувствительности зеленящих стрептококков и *S. pneumoniae* ввиду их скудного роста при разведении в этой тест-системе.

ВНИМАНИЕ!

Процедура приготовления суспензии исследуемого штамма и интерпретация данных имеет некоторые различия в зависимости от того, работаете ли Вы со стрептококками или энтерококками.

Набор включает:

- 10 планшетов для определения чувствительности;
- 1 пакетик сухой суспензионной среды. ВНИМАНИЕ! Необходимо приготовить перед началом исследования;
- крышку с нанесенными на нее сокращенными названиями антибиотиков;
- 10 полиэтиленовых пакетиков;
- бланки для записи результатов;
- пакет для хранения неиспользованных стрипов.

Хранение и срок годности набора:

Рекомендовано хранение набора при 15-25°C. Предельный срок годности обозначен на индивидуальной упаковке каждого планшета. После открытия алюминиевой упаковки необходимо поместить неиспользуемые стрипы в пакет для хранения (пригодны к использованию в случае хранения при комнатной температуре **не более 8 суток**). При перекладывании неиспользованных стрипов в пакет для хранения необходимо написать на нем название набора, дату вскрытия/дату окончания срока хранения (например, Г-I или Г-II, вскрыто 01.09.11, использовать до 09.09.11), чтобы избежать возможных ошибок в дальнейшем.

Хранение открытых планшетов в течение более длительного времени может привести к полной потере активности антибиотиков!

Если температура в лаборатории превышает 25°C, набор или невскрытые пакеты лучше переложить в холодильник. В таком случае перед началом работы их следует достать заранее, чтобы довести их температуру до комнатной (в течение 2 ч), чтобы избежать негативного воздействия влажности на антибиотики.

Вскрытые пакеты следует хранить только при комнатной температуре.

Хранение и срок годности суспензионной среды:

Сухая суспензионная среда хранится при температуре 15-25°C до достижения предельного срока годности, обозначенного на упаковке. Приготовленную суспензионную среду можно использовать в течение 6 мес. при температуре 15-25°C. Не следует хранить приготовленную среду при более низкой температуре, так как это может привести к образованию геля. Если же гель образовался, согреть среду при комнатной температуре и встряхнуть перед использованием.

Для дальнейшей работы суспензионную среду можно разлить в стерильные пробирки по 4,4 мл.

Материалы и оборудование, необходимые для выполнения теста, которые не входят в набор:

- стерильный физиологический раствор;
- стерильные пробирки;
- механический или автоматический дозатор/степпер;
- прибор для определения мутности бактериальной суспензии (например, Денси-Ла-Метер II) или стандарты мутности;
- термостат, 37°C;
- традиционное оборудование микробиологической лаборатории (петля, маркер, горелка и т. д.)

Материалы и оборудование, необходимые для приготовления суспензионной среды, которые не входят в набор:

- флакон с завинчивающейся крышкой;
- шпатель для смешивания или мешалка;
- автоклав.

ВНИМАНИЕ: Набор предназначен только для профессионального использования!
Соблюдайте правила при работе с инфекционным материалом!

Методика исследования антибиотикочувствительности с применением СЕНСИ-ЛА-ТЕСТ Г+

ВНИМАНИЕ: Перед началом исследования приготовьте суспензионную среду!

Приготовление суспензионной среды:

Из одного пакетика суспензионной среды готовят 0,5 л суспензионной среды. Во флакон с завинчивающейся крышкой высыпать один пакетик сухой суспензионной среды, добавить 0,5 л подогретой дистиллированной воды, перемешать, проавтоклавируют при температуре 121°C в течение 30 мин. Охладить до комнатной температуры, перемешать в стерильных условиях. Незначительный осадок в нижней части флакона не оказывает влияния на качество среды. Перед применением суспензионной среды измерить pH. Для применения пригодна среда с pH 7,5 (±0,1). При необходимости скорректировать pH.



Приготовление бактериальной суспензии:

1. Приготовить пробирки с 2 - 5 мл физиологического раствора pH 5,5–6,5.
2. Приготовить пробирки с 4,4 мл суспензионной среды с оптимальной для процедуры температурой 37°C.
3. Снять несколько колоний 18-24 часовой культуры с кровяного агара и в физиологическом растворе приготовить бактериальную суспензию плотностью:
 - 0,5 McF — для энтерококков,
 - 1,0 McF — для стрептококков

Приготовление суспензии более высокой степени мутности не так критично для получаемых результатов, чем менее густая суспензия.

- **Энтерококки** В пробирки с суспензионной средой 4,4 мл внести **40 мкл** бактериальной суспензии и тщательно перемешать.
- **Стрептококки** В пробирки с суспензионной средой 4,4 мл внести **80 мкл** бактериальной суспензии и тщательно перемешать.

Инокуляция:

Удалите алюминиевую упаковку с планшета. **Внимание! Не вскрывать упаковку планшета ранее, чем за 30 мин до начала инокуляции, чтобы предотвратить негативное влияние влажности на антибиотики.** Отломите необходимое для исследования количество стрипов. Неиспользуемые стрипы и осушитель сразу поместите в пакет для хранения и плотно закройте пластиковую застёжку. При перекалывании неиспользованных стрипов в пакет для хранения необходимо написать на нем название набора, дату вскрытия/дату окончания срока хранения (например, Г-I или Г-II, вскрыто 01.09.11, использовать до 09.09.11), чтобы избежать возможных ошибок в дальнейшем. **Длительное хранение вскрытого планшета может привести к полной потере активности антибиотиков! После вскрытия упаковки используйте стрипы в течение 8 дней!** На стрипе напишите номер исследуемого штамма. Наряду с номером анализа на стрипе необходимо указать и название набора (например, Г-I или Г-II), чтобы избежать возможных ошибок при учете результатов после инкубации.

Инокулируйте по 100 мкл приготовленной суспензии в каждую микролунку стрипа с помощью механического или автоматического дозатора/степпера.

Инкубация:

Заполненный планшет вложите в полиэтиленовый пакет, подвернув край пакета для предотвращения испарения во время инкубации (при 37°C в течение 18–24 ч).

Учет результатов:

Достаньте планшет из полиэтиленового пакета, оцените рост в микролунках визуально, выбрав наиболее подходящий способ:

- используя крышку с нанесёнными на ней названиями антибиотиков;
- используя тёмный фон под планшетом;
- проанализировав признаки бактериального роста в проходящем искусственном или естественном свете, так образом можно учесть даже слабый рост в виде зерен или в виде незначительного помутнения.

Для регистрации бактериального роста в лунках планшета также может быть использована автоматизированная методика с использованием планшетного фотометра и ПК, оснащенного программой «Микроб-Автомат» (с последующим переносом данных в «Микроб-2»).

ВНИМАНИЕ!

Для достоверной оценки чувствительности к антибиотику необходимо контролировать наличие бактериального роста в контрольной лунке.

Если в ней роста нет, то результаты не должны учитываться!

Степень мутности в контрольной лунке не должна использоваться для сравнения с мутностью в лунках с антибиотиками.

Любое изменение полной прозрачности следует оценивать как рост, включая небольшие крупинки на дне лунок, легкую опалесценцию или частичный рост в части микролунки. Необходимо отличать пузырьки воздуха в среде от микрогранул. Запишите результаты.

H	G	F	E	D	C	B	A
Контроль роста	Хлорамфеникол	Моксифлоксацин		Линезолид		Ампициллин	
GC	СМР 8	МОХ 0,5	МОХ 1	LIZ 2	LIZ 4	AMP 4	AMP 8
Тигециклин		Левифлоксацин		Эритромицин		Пенициллин G	
TGC 0,25	TGC 0,5	LEV 1	LEV 2	ERY 0,25	ERY 0,5	PEN 0,25	PEN 2
Цефтриаксон		Тетрациклин		Клиндамицин	Гентамицин	Ванкомицин	
CRO 0,5	CRO 1	TET 1	TET 2	CLI 0,5	GEN 256	VAN 2	VAN 4

Таблица интерпретации:

Контроль роста	КР	Энтерококки										Стрептококки А,В,С,Г																	
Ампициллин	AMP	-	-	S	+	-	I	+	+	R	См. примечание ниже																		
Цефтриаксон	CRO	Не интерпретировать															-		S				+		R				
Клиндамицин	CLI																-	-	S	+	-	I	+	+	R				
Эритромицин	ERY	Не интерпретировать										-	-	S	+	-	I	+	+	R									
Гентамицин	GEN											-		S					+		R	Не интерпретировать							
Хлорамфеникол	CMP	Не интерпретировать										-		S				+		R									
Левифлоксацин	LEV											-	-	S	+	-	I	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R
Линезолид	LIZ	-	-	S	+	-	S	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R										
Моксифлоксацин	MOX	Не интерпретировать										-	-	S	+	-	I	+	+	R									
Пенициллин G	PEN											-	-	S	+	-	R	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R
Тетрациклин	TET											-	-	S	+	-	I	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R
Тигециклин	TGC	-	-	S	+	-	I	+	+	R	-	-	S	+	-	I	+	+	R										
Ванкомицин	VAN	-	-	S	+	-	S	+	+	R	-	-	S	+	-	R	+	+	R										

Если зарегистрирован рост в лунке с высокой концентрацией антибиотика при отсутствии роста в лунке с низкой концентрацией того же препарата, то оценивать такие результаты нельзя, поскольку это свидетельствует об ошибке тестирования. Исследование необходимо повторить.

Интерпретация результатов:

Энтерококки

Ампициллин: результат тестирования может быть также использован для амоксициллина, амоксициллина/клавуланата, ампициллина/сульбактама, пиперациллина, пиперацина/сульбактама (эти антибиотики не входят в набор).

Гентамицин: результат следует оценивать только при инфекционном эндокардите.

Линезолид: если обнаружена устойчивость, необходимо подтвердить результаты методом МПК (например, на Е-тесте), поскольку резистентные штаммы встречаются крайне редко.

Тигециклин: если обнаружена устойчивость, необходимо подтвердить результаты методом МПК (например, на Е-тесте), поскольку резистентные штаммы встречаются крайне редко.

Ванкомицин: если обнаружена устойчивость, необходимо подтвердить результаты методом МПК (например, на Е-тесте) или другими тестами (например, ПЦР).

Стрептококки групп А,В,С,Г

Клиндамицин: в случае обнаружении устойчивости к эритромицину при чувствительности к клиндамицину (или при умеренной устойчивости к нему), следует подтвердить наличие MLSb-типа резистентности (устойчивость к макролидам, линкозамидам, стрептограмину В) диско-диффузионным методом (диски с клиндамицином и эритромицином) и откорректировать результаты по клиндамицину.

Эритромицин: результаты могут быть использованы также для азитромицина, кларитромицина, рокситромицина.

Левифлоксацин: устойчивость необходимо подтвердить диско-диффузионным методом или определив МПК (например, на Е-тесте).

Линезолид: устойчивость необходимо подтвердить диско-диффузионным методом или определив МПК (например, на Е-тесте).

Моксифлоксацин: устойчивость необходимо подтвердить диско-диффузионным методом или определив МПК (например, на Е-тесте).

Пенициллин G: чувствительность к ампициллину, цефалоспорином (цефтриаксон) и карбапенемам (не входят в набор) совпадает с таковой к пенициллину. Поэтому ампициллин и цефтриаксон могут быть также контролями: в случае выделения штамма, чувствительного к пенициллину, в лунках с ампициллином и цефтриаксона роста быть не должно быть (при удовлетворительном контроле роста). Устойчивость к пенициллину практически не описана или отмечалась крайне редко, поэтому при обнаружении таких штаммов их необходимо отправлять в референс-центры для подтверждения результата.

Бета-гемолитические стрептококки не продуцируют бета-лактамазы, поэтому комбинации с ингибиторами не дают какого-либо превосходства при лечении.

Тигециклин: устойчивость необходимо подтвердить диско-диффузионным методом или определив МПК (например, на Е-тесте). Устойчивые штаммы крайне редки.

Ванкомицин: устойчивость необходимо подтвердить диско-диффузионным методом или определив МПК (например, на Е-тесте) или другими методами (ПЦР),

Для интерпретации данных могут быть также использованы другие национальные правила и стандарты.

Контроль качества:

Для проведения внутреннего контроля качества могут быть использованы следующие контрольные штаммы. Предпочтение следует отдать результатам по контрольным штаммам, указанным в рекомендациях EUCAST.

CCM 4223 <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 29213)							
GC +	CMP +/- 8	MOX – 0,5	MOX – 1	LIZ +/- 2	LIZ – 4	AMP – ¹ 4	AMP – ¹ 8
TGC – 0,25	TGC – 0,5	LEV – 1	LEV – 2	ERY +/- 0,25	ERY +/- 0,5	PEN +/- 0,25	PEN – 2
CRO ² 0,5	CRO ² 1	TET – 1	TET – 2	CLI – 0,5	GEN – 256	VAN – 2	VAN – 4

CCM 3954 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)							
GC +	CMP – 8	MOX – 0,5	MOX – 1	LIZ ² 2	LIZ ² 4	AMP +/- 4	AMP +/- 8
TGC – 0,25	TGC – 0,5	LEV – 1	LEV – 2	ERY ² 0,25	ERY ² 0,5	PEN ² 0,25	PEN ² 2
CRO – 0,5	CRO – 1	TET ² 1	TET ² 2	CLI ² 0,5	GEN – 256	VAN ² 2	VAN ² 4

1 Данных в рекомендациях EUCAST нет, результаты даны по итогам внутреннего контроля качества, проводимого в Erba Lachema s.r.o.

2 Данных в рекомендациях EUCAST нет

+ Наличие роста

– Отсутствие роста

ATCC – American Type Culture Collection (Американская коллекция микроорганизмов)

CCM – Чешская коллекция микроорганизмов

ГМСК – Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича, г. Москва, телефон 8 (499) 241-31-19

Меры предосторожности: Компоненты набора не содержат опасных веществ.

Дезинфекция: После употребления тест-системы подлежат обеззараживанию в дезинфицирующем растворе либо автоклавированию. Бумажную упаковку сдайте в макулатуру.

Дата проведения последнего контроля: 7.9.2011