

Кат. No.: 10020279

Для микробиологии

Набор предназначен для определения антимикробной чувствительности бактерий семейства *Enterobacteriaceae* на основе определения бактериального роста при пограничных (break-point) концентрациях антибиотика и рассчитан на 60 культур.

Выбор концентраций антибиотика основан на 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 учитываются через 18-24 ч инкубации визуально или фотометрически по наличию бактериального роста в микролунках планшета.

Для определения чувствительности к антибиотикам при лечении пациентов с тяжёлыми формами инфекций, особенно у госпитализированных пациентов, а также при выделении полирезистентного штамма мы рекомендуем использовать также набор СЕНСИ-ЛА-ТЕСТ Г-II (совместно с СЕНСИ-ЛА-ТЕСТ Г-I), поскольку он содержит антибиотики, обычно назначаемые в этих случаях.

Набор Г-I включает:

- 10 планшетов для определения чувствительности;
- 1 пакетик сухой суспензионной среды. **ВНИМАНИЕ!** Необходимо приготовить перед началом исследования;
- крышку с нанесёнными на нее сокращёнными 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, следует 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) 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-I

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, проавтоклавировать при температуре 121°C в течение 30 мин. Охлаждать до комнатной температуры, перемешать в стерильных условиях. Незначительный осадок в нижней части флакона не оказывает влияние на качество среды. Перед применением суспензионной среды измерить pH. Для применения пригодна среда с pH 7,5 ($\pm 0,1$). При необходимости скорректировать pH. Для дальнейшей работы суспензионную среду можно разлить в стерильные пробирки по 4,4 мл.

Приготовление бактериальной суспензии:

1. Приготовить пробирки с 2 - 5 мл физиологического раствора pH 5,5-6,5 комнатной температуры.
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. **Приготовление суспензии более высокой степени мутности не так критично для получаемых результатов, чем менее густая суспензия.**
4. Для приготовления суспензии в пробирки с суспензионной средой (4,4 мл) добавить 20 мкл бактериальной суспензии.

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. **Длительное хранение вскрытого планшета может привести к полной потере активности антибиотиков!**

После вскрытия упаковки используйте стрипы в течение 8 дней! 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.

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	Ампициллин	Ампициллин / сульбактам	Цефалексин	Цефуроксим	Цефотаксим		Колистин
GC	AMP 8	AMS 8/4	CEX 16	CXM 8	CTX 1	CTX 2	COL 2
Ципрофлоксацин		Триметоприм / сульфаметоксазол		Гентамицин		Амикацин	
CIP 0,5	CIP 1	T/S 2/38	T/S 4/76	GEN 2	GEN 4	AMK 8	AMK 16

Таблица интерпретации:

											Результат: +/-	Оценка (S, I, R)
контроль роста	KP	+										
амикацин	AMK	-	-	S	+	-	I	+	+	R		
ампициллин	AMP	-		S				+		R	x	
ампициллин/сульбактам	AMS	-		S				+		R	x	
цефалексин	CEX	-		S				+		R	x	
цефуроксим	CXM	-		S				+		R	x	
цефотаксим	CTX	-	-	S	+	-	I	+	+	R		
колистин	COL	-		S				+		R	x	
ципрофлоксацин	CIP	-	-	S	+	-	I	+	+	R		
гентамицин	GEN	-	-	S	+	-	I	+	+	R		
триметоприм/сульфаметоксазол	T/S	-	-	S	+	-	I	+	+	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:

Устойчивость к **цефотаксиму (цефуроксиму, цефалексину)** указывает на возможную продукцию бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС, ESBL). Необходимо подтвердить эти результаты диско-диффузионным методом (диски с цефподоксимом и цефподоксимом/клавуланатом, амоксициллином и амоксициллином/клавуланатом).

При получении чувствительности **Enterobacter cloacae** к ампициллину, ампициллину/сульбактаму и цефалексину результат следует выдавать как «резистентный» («чувствительность» связана с недостаточной выработкой бета-лактамаз *in vitro*).

Все штаммы **Proteus spp., Morganella morganii** и **Providentia spp.** устойчивы к **колистину**.

Примеры возможных ошибок:

Чувствительность к цефалексину и цефуроксиму при устойчивости к цефотаксиму.

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 3954 <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)							
GC +	AMP – 8	AMS – 8/4	CEX ¹ – 16	CXM – 8	CTX – 1	CTX – 2	COL – 2
CIP – 0,5	CIP – 1	T/S – 2/38	T/S – 4/76	GEN – 2	GEN – 4	AMK – 8	AMK – 16

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

+ Наличие роста – Отсутствие роста

Другие рекомендуемые штаммы:

CCM 3955 *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853)

CCM 4223 *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213)

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: 1.9.2011