ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ТЕСТ-СИСТЕМЫ «АБ-СТРБ» ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ СТРЕПТОКОККОВ, ОБРАЗУЮЩИХ БИОПЛЕНКУ

Тест-система «АБ-СТРБ» для определения чувствительности стрептококков, образующих биопленку однократного использования служит для определения чувствительности облигатно-анаэробных микроорганизмов к антибиотикам в полужидкой среде после 18-48 ч инкубации. Учёт чувствительности возможен визуально или инструментально с помощью анализатора иммуноферментного Ф300ТП и компьютера с программным обеспечением «bactoSTREP».

В культуральную среду добавляется бактериальная взвесь, которые затем вносятся в лунки планшета, содержащего лиофильно высушенные антибиотики. После инкубации производится визуальный или инструментальный учёт. Резистентные штаммы растут в лунке, делая среду непрозрачной, а если штамм чувствителен к антибиотику – среда остаётся прозрачной.

1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Тест-система «АБ-СТРБ» для определения чувствительности стрептококков, образующих биопленку предназначена для определения чувствительности к антибиотикам возбудителей стрептококковой инфекции с учетом способности формировать биопленку.

Область применения тест-системы – клиническая медицина.

2 СОСТАВ НАБОРА

2.1 Компоненты тест-системы «АБ-СТРБ» для определения чувствительности стрептококков, образующих биопленку:

96-луночный плоскодонный планшет – 2 шт;

Среда АБ для культивирования стрептококков объемом (4+0,1) мл – 8 флаконов;

Стерильный раствор хлорида натрия с массовой долей 0,9%, (5±0,1) мл, в ампуле – 8 флаконов (ампул);

Наконечники полипропиленовые стерильные для автоматических дозаторов вместимостью 200 мкл – 8 шт;

2.2 Планшет содержит 96 лунок (12 колонок и 8 рядов, по 2 ряда - 24 лунки для определения чувствительности одного штамма микроорганизма). Всего планшет позволяет определять чувствительность к 19 антибиотикам четырех штаммов микроорганизмов. Последняя лунка каждого четного ряда не содержит антибиотика и служит для определения положительного контрольного роста. 4 лунки отведены на определение способности формировать биоплёнку. Остальные 19 лунок содержат антибиотики.

2.3 Концентрации антибиотиков в лунках планшета (в мг/л после внесения питательной среды) представлены в таблице 1

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Таблица 1 – Концентрации антибиотиков в лунках планшета (в мг/л после внесения питательной среды)

Тест-система «АБ-СТРБ» №1

Обозначения антибиотиков для рядов:	Номер лунки											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
- A, C, E, G	BioF	BioF	АмиЕ 164	Ам+К 0,5	Ам+С 0,5	АмпЕ 8	Бен 0,25	ВанЕ 2	ГенЕ 128	Ими 2	ЛевЕ 2	Лин 4
- B, D, F, H	Kf	Kf	Мер 2	Мок 0,5	СтрЕ 512	ТетЕ 4	ТигЕ 4	ФосЕ 4	ХлоЕ 8	Цип 0,5	ЭриЕ 0,5	К (+)

Примечание:

BioF – биоплёнка;

Kf – контроль биоплёнки;

К – положительный контроль;

знак «+» означает - наличие роста в лунке;

знак «-» означает - отсутствие роста в лунке.

Тест-система «АБ-СТРБ» №2

Обозначения антибиотиков для рядов:	Номер лунки											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
- A, C, E, G	Мок	ЛевЕ	Цип	ТигЕ	Лин	ФосЕ						К
- B, D, F, H	Мок	ЛевЕ	Цип	ТигЕ	Лин	ФосЕ						К

Примечание:

К – положительный контроль;

знак «+» означает - наличие роста в лунке;

знак «-» означает - отсутствие роста в лунке.

Сокращённые названия антибиотиков с концентрациями и примечаниями по определению устойчивости представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Активные ингредиенты тестов для тест-системы «АБ-СтрБ» №1 для определения чувствительности к антибиотикам стрептококков и их способности формировать биопленку.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Название антибиотика	Сокращенное обозначение	Активные ингредиенты	Кол-во мг/л
Биопленка	BioF	-	-
Биопленка	BioF	-	-
Контроль биопленки (Б)	КВ	-	-
Контроль биопленки (Б)	КВ	-	-
Амикацин Е (164)	Ами	Амикацин Е	164
Амоксициллин+Клавуланат (0,5)	Ам+К	Амоксициллин+Клавуланат	0,5
Ампициллин Е (8)	Амп	Ампициллин Е	8
Ампициллин+Сульбактам (0,5)	Ам+С	Ампициллин+Сульбактам	0,5
Бензилпенициллин (0,25)	Бен	Бензилпенициллин	0,25
Ванкомицин Е (2)	ВанЕ	Ванкомицин Е	2
Гентамицин Е (128)	ГенЕ	Гентамицин Е	128
Имипенем (2)	Ими	Имипенем	2
Левофлоксацин Е (2)	ЛевЕ	Левофлоксацин Е	2
Линезолид (4)	Лин	Линезолид	4
Меропенем (2)	Мер	Меропенем	2
Моксифлоксацин (0,5)	Мок	Моксифлоксацин	0,5
Стрептомицин Е (512)	СтрЕ	Стрептомицин Е	512
Тетрациклин Е (4)	ТетЕ	Тетрациклин Е	4
Тигециклин Е (4)	ТигЕ	Тигециклин Е	4
Фосфомицин Е (4)	ФосЕ	Фосфомицин Е	4
Хлорамфеникол Е (8)	ХлоЕ	Хлорамфеникол Е	8
Ципрофлоксацин (0,5)	Цип	Ципрофлоксацин	0,5
Эритромицин Е (0,5)	ЭриЕ	Эритромицин Е	0,5

Таблица 3 – Активные ингредиенты тестов для тест-системы №2 «АБ-СтрБ» для определения чувствительности стрептококков, образующих биопленку, к антибиотикам в концентрации мг/л

Название антибиотика	Сокращенное обозначение	Активные ингредиенты	Кол-во мг/л
Моксифлоксацин (2)	Мок	Моксифлоксацин	2
Левофлоксацин Е (2)	ЛевЕ	Левофлоксацин Е	2

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

Продолжение таблицы 3

Ципрофлоксацин (2)	Цип	Ципрофлоксацин	2
Тигециклин Е (0,5)	ТигЕ	Тигециклин Е	0,5
Линезолид (4)	Лин	Линезолид	4
Фосфомицин Е (4)	ФосЕ	Фосфомицин Е	4
Контроль (АБ)	К	-	-

3 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

3.1 Флаконы со средой и планшеты должны быть выдержаны при температуре от 18 до 30°С 20 минут.

3.2 Работа с планшетом должна проводиться в стерильном боксе после 30 минут обработки ультрафиолетовым облучением.

3.3 Необходимое лабораторное оборудование:

- холодильник;
- термостат электрический для выращивания бактерий с автоматическим терморегулятором до температуры 37,6°С с ценой деления 0,1°С;
- спиртовая или газовая горелка;
- дозаторы автоматические с погрешностью 1 % объёмом от 5 до 20 мкл и от 20 до 200 мкл;
- денситометр, спектрофотометр или стандартный образец оптической плотности 4 оптические единицы *McFarland* ;
- анализатор иммуноферментный АИФ М/340 или Ф 300ТП;
- программное обеспечение «bactoSTREP»;
- IBM совместимый компьютер.

4 МЕТОДИКА ПОСТАНОВКИ

4.1 В стерильный флакон внести 2 мл стерильного раствора хлорида натрия с массовой долей 0,9 %.

4.2 Подготовка рабочих растворов.

Приготовленные основные растворы можно хранить в замороженном состоянии при температуре ниже - 60°С не более 6 мес. Растворы антибиотиков нельзя повторно замораживать, так как повторные циклы таяния — замораживания ускоряют деградацию ряда антибиотиков.

4.3 Перенести в ампулу с питательной АБ средой для культивирования стрептококков 200 мкл приготовленной взвеси бактерий и тщательно перемешать.

4.4 Внести в каждую лунку планшета по 135 мкл питательной среды АБ для культивирования стрептококков с микроорганизмами (2,9 х 10^8 КОЕ/мл).

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

4.5 Планшет накрыть крышкой. Инкубировать 18-48 ч при 37°С в термостате в строго анаэробных условиях.

5 УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1 Резистентные штаммы растут в лунке, делая среду непрозрачной, а если штамм чувствителен к антибиотику – среда остаётся прозрачной.

5.2 При отсутствии роста в контрольной лунке – тест считается недействительным, и его необходимо повторить.

5.3 Визуальный учет

Для антибиотиков, представленных в одной концентрации

Визуальный учет		Результат	Исследуемые штаммы	
○	прозрачная	-	Ч (S)	Чувствительный
●	мутная	+	Р (R)	Резистентный

5.4 Инструментальный учет

Измерение оптической плотности проводят на иммуноферментном анализаторе Ф300ТП с помощью программного обеспечения «bactoSTREP».

При отсутствии роста в контрольной лунке – тест считается недействительным, и его необходимо повторить.

6 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

6.1 Тест-система должна храниться при температуре плюс (4±2)°С на протяжении всего срока годности, указанного на упаковке.

6.2 Флаконы со средой и планшеты перед постановкой опыта должны быть выдержаны при температуре 20-30°С 20 минут.

6.3 Для исследования необходимо использовать только 18-48 ч культуру микроорганизма.

6.4 Количество вносимого инокулята должно быть стандартным. Поэтому обязательно необходимо пользоваться денситометром или стандартом оптической плотности.

6.5 Для отбора и добавления реагентов необходимо использовать полуавтоматические пипетки со сменными наконечниками, аттестованные на точность по значению средней дозы и воспроизводимость результатов пипетирования.

6.6 Инкубация планшета должна производиться в температурном режиме 35 - 37^{0}С. При повышении или понижении температуры возможен некорректный результат.

6.7 Большое количество пузырьков в культуральной среде может изменить результаты автоматического учёта чувствительности.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru

6.8 Собранный материал и бактериальные культуры следует считать потенциально опасными, что требует опытного и квалифицированного обращения. После использования все планшеты, флаконы и наконечники должны быть простерилизованы в паровом стерилизаторе при температуре (120±2) °С давлении (0,11±0,02) мПа (1,1±0,2) кгс/см^2 в течении (45±3) мин, сожжены или дезинфицированы погружением в раствор хлорамина Б с массовой долей 0,5 % с экспозицией 30 мин.

6.9 Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

7 ФОРМА ВЫПУСКА

7.1 Планшет позволяет определять чувствительность к 12 антибиотикам четырех штаммов микроорганизмов.

7.2 Компоненты тест-системы в виде комплекта, включающего 2 планшета с антибиотиками, 1 пакетик с силикагелем , 8 флаконов питательной среды культивирования стрептококков (4±0,1) мл, 8 флаконов стерильного раствора хлорида натрия с массовой долей 0,9 % (5±0,1) мл, 8 наконечников стерильных для автоматических дозаторов вместимостью 200 мкл, лист с комплектностью (таблица 2) и инструкция по применению помещаются в коробку из картона коробочного.

7.3 В тару с тест-системами, направлением в каждый адрес по требованию заказчика вкладывается 1флакон стандартного образца оптической плотности 0,5 оптические единицы *McFarland*, объемом (0,5±0,1)мл.

8 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

8.1 Хранение тест-системы должно производиться при температуре плюс (4±2)°С на протяжении всего срока годности.

8.2 Транспортирование тест-системы осуществлять при температуре плюс (4±2)°С в сухих, чистых, крытых транспортных средствах (ГОСТ 17768).

8.3 Срок годности тест-системы - 12 месяцев с даты изготовления.

8.4 При нарушении условий хранения, транспортирования и схемы постановки опыта рекламации не принимаются.

В остальных случаях рекламации на качество тест-системы направляются по адресу изготовителя: 210009, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27. Тел.: +375 (212) 60-13-95; Факс: +375 (212) 64-81-57.

УО "Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет.

Регистрация МИ в Росздравнадзоре
www.nevacert.ru | info@nevacert.ru