

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ФБУН «НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера»

А.Б. Жебрун

2015 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения чувствительности
Trichomonas vaginalis к антипротозойным препаратам (СВТ-АЧ)

Комплект №2

НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов для определения чувствительности *Trichomonas vaginalis* к антипротозойным препаратам (СВТ-АЧ) предназначен для определения чувствительности *T. vaginalis* к семи концентрациям метронидазола в 5, 10, 20, 40, 80, 160, 320 мкг. Комплект №2 набора СВТ-АЧ позволяет определить минимальную подавляющую концентрацию (МПК) метронидазола для метронидазолрезистентных штаммов *T. vaginalis* и рассчитан на проведение 10 анализов, включая контроли.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Принцип метода заключается в обнаружении подавления роста после культивирования исследуемого штамма *T. vaginalis* в тех лунках 8 луночного стрипа с селективной питательной средой, в которых содержится антипротозойный препарат.

СОСТАВ НАБОРА

- 8-луночные стрипы с метронидзолом - 10 шт.
- питательная среда для выявления *T. vaginalis*, лиофилизированная, из 2 мл -10 фл.

Принадлежности:

- гребенки для микроскопии – 10 шт.;
- рамка-держатель для стрипов – 1 шт.;
- пленки для заклеивания стрипов – 10 шт.;
- бланки учета результатов исследования – 10 шт.

Комплект №2 рассчитан на проведение 10 анализов, включая контроли.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Набор СВТ-АЧ предназначен только для *in vitro* диагностики.

Компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с набором следует соблюдать СанПин 2.1.3.2630-10 «Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющих медицинскую деятельность» и СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV групп патогенности».

ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

Термостат, поддерживающий температуру 37 ± 1 °C.

Микроскоп биологический (ув. 400 р).

Дозаторы пипеточные (50, 200, 1000 мкл).

Вода дистиллированная ГОСТ 6709-72.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Для обнаружения *T.vaginalis* пригодны следующие биологические материалы: отделяемое влагалища, отделяемое шейки матки, отделяемое уретры, сперма, моча.

Отобранные образцы биоматериала для исследования в пробирках с транспортной средой доставить в лабораторию в соответствии с температурным режимом.

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

1. Приготовление жидкой питательной среды.

Во флакон с лиофилизированной питательной средой для обнаружения *T.vaginalis* добавить 2,5 мл дистиллированной воды. Содержимое флакона перемешать до полного растворения. Перед применением среду прогреть в термостате до температуры 37 °C.

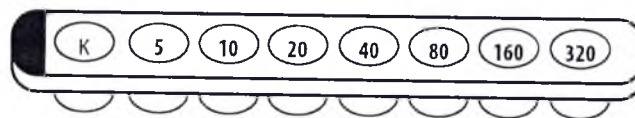
2. Приготовление инокулята.

Из пробирки, в которой проводилось первичное выделение и/или накопление культуры *T.vaginalis* отобрать почти всю питательную среду, стараясь не касаться осадка. В случае если осадка нет, в пробирке оставить не менее 50 мкл среды (дна пробирки не касаться). К оставшемуся в пробирке осадку или жидкости добавить 500 мкл свежей питательной среды. В правильно приготовленном инокуляте количество клеток должно быть не менее 10^5 кл/мл. (2-3 клетки *T.vaginalis* в каждом поле зрения микроскопа при микроскопии нативного препарата (*400)).

3. Проведение теста.

Взять количество стрипов, равное количеству исследуемых проб, и установить их в рамку-держатель. Во все лунки каждого стрипа (Рис. 1) внести по 200 мкл прогретой до температуры 37 °C жидкой питательной среды. Затем во все лунки внести по 50 мкл приготовленного инокулята, который перед внесением перемешать пипетированием. Стрип заклеить пленкой и поставить в термостат при температуре 37 °C.

Рис. 1. Схема расположения антипротозойных препаратов и контроля в лунках стрипа.



К	- без препарата	40	- метронидазол 40 мкг
5	- метронидазол 5 мкг	80	- метронидазол 80 мкг
10	- метронидазол 10 мкг	160	- метронидазол 160 мкг
20	- метронидазол 20 мкг	320	- метронидазол 320 мкг

Для определения чувствительности штаммов *T.vaginalis* к антипротозойным препаратам учет результатов проводить поэтапно: через 48 ч и через 72 ч. Для этого содержимое лунок стрипа перемешать 3 кратным пипетированием с помощью 8 канальной пипетки. Затем разместить на столе стрип так, чтобы его маркированная сторона была слева от оператора, (Рис. 2) и погрузить в лунки стрипа гребенку так, чтобы ее лицевая сторона была направлена в сторону оператора. Зубцы гребенки держать в лунках до тех пор (примерно 30 сек), пока все

пространство каждого зубца не заполнится суспензией. Затем гребенку вынуть из стрипа, слегка промокнуть зубцы фильтровальной бумагой и поместить на предметное стекло.

4. Учет и интерпретация результатов

Микроскопию зубцов гребенки проводить в затемненном поле микроскопа при увеличении в 400 раз. Первоначально необходимо просматривать зубец-контроль (К), затем все остальные зубцы. При обнаружении *T.vaginalis* в зубце с препаратом штамм оценивать как устойчивый (R) к данной концентрации метронидазола; при отсутствии *T.vaginalis* в зубце с препаратом штамм оценивается как чувствительный (S) к данной концентрации метронидазола (МПК). Подтверждением правильности проведения анализа служит наличие клеток *T.vaginalis* в зубце без препарата (К).

Рис. 2. Схема погружение гребенки в лунки стрипа.



УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА

Набор СВТ-АЧ можно хранить при температуре 2-8 °С в течение всего срока годности (12 месяцев). Допускается хранение набора при температуре 10-25 °С не более 2 недель.

Жидкую питательную среду хранить до применения при температуре 2-8 °С не более 1 недели или при температуре минус 7 °С и ниже не более двух месяцев.

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

По вопросам, касающимся качества набора СВТ-АЧ, следует обращаться во ФБУН НИИЭМ имени Пастера по адресу: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, 14, тел/факс: (812) 233 17 03, 313 69 89, телефон: (812) 325 27 10, 313 69 88.

<http://www.dntpasteur.ru>; e-mail: pasteurdnt@va.ru

Директор ФБУН НИИ эпидемиологии
и микробиологии имени Пастера



А.Б. Жебрун

Пронумеровано и
прошнуровано

при (опри)

Директор
А.Б. Жабрун

