

API® 20 A

api 20 A - Набор для идентификации анаэробов (далее по тексту тест-система API 20 A)



НАЗНАЧЕНИЕ

Тест-система API 20 A — это стандартизированная система для качественной идентификации анаэробных микроорганизмов. Она состоит из миниатюрных тестов и специально составленной базы данных.

Посев на стрип и учет результатов выполняются вручную, в то время как для идентификации используется специально предназначенное для этого программное обеспечение.

Полный список видов микроорганизмов, которые можно идентифицировать с помощью данной системы, приведен в техническом руководстве «Информация о программном обеспечении для идентификации».

ПРИНЦИП

Стрип API 20 A состоит из 20 микролунок, содержащих сухие субстраты. В эти микролуночки производится посев бактериальной суспензией, которая восстанавливает среду.

В результате накопления продуктов метаболизма в ходе инкубации происходит изменение цвета среды, спонтанное или проявляющееся при добавлении реактивов.

Учет результатов реакции производится в соответствии с таблицей учета результатов, а идентификация осуществляется с помощью программного обеспечения для идентификации (ATB NEW или APIWEB).

СОСТАВ НАБОРА

НАБОР НА 25 ТЕСТОВ

- Стрип API 20 A, 25 шт .
- Ампула со средой API 20 A Medium, 25 шт.
- Контейнер для инкубации, 25 шт.
- Бланк учета результатов, 25 шт.
- 1 вкладыш в упаковку с инструкцией по применению находится в наборе, либо его можно загрузить с сайта www.biomerieux.com/techlib.

СОСТАВ

Состав стрипа

Состав стрипа приведен в таблице учета результатов, содержащейся в настоящем вкладыше в упаковку.

Состав среды

API 20 A Medium 4 мл	Триптиказа	5 г
	Дрожжевой экстракт	5 г
	Натрия хлорид	2,5 г
	L-триптофан	0,2 г
	L-цистин	0,4 г
	Гемин (свиной)	0,005 г
	Витамин K ₁	0,01 г
	Натрия сульфит	0,1 г
	Вода деминерализованная	до 1000 мл
	рН: 6,9–7,3	

Указанные количества могут отличаться в зависимости от титра используемого сырья.

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАГЕНТЫ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В КОМПЛЕКТ

Реактивы

- MINERAL OIL - Минеральное масло (по тексту минеральное масло) (номер по каталогу 70100).
- McFarland Standard – Набор стандартов мутности МакФарланда (по тексту стандарт McFarland Standard) (номер по каталогу 70900), 3 единицы
- Перекись водорода (3 %)
- Реактивы:

- BCP - Реактив BCP (по тексту BCP) (номер по каталогу 70510).
- EHR - Реактив EHR (по тексту EHR) (номер по каталогу 70520).
- XYL - Реактив XYL (по тексту XYL) (номер по каталогу 70530).

Материалы

- Тампоны
- Пипетки или псипетки
- Штатив для ампул
- Протектор для ампул
- Генератор анаэробной атмосферы
- Ультрафиолетовая лампа (365 нм)
- Денситометр DENSIMAT (номер по каталогу 99234) (дополнительно)
- Общее микробиологическое лабораторное оборудование
- Программное обеспечение ATB NEW или APIWEB для идентификации (проконсультируйтесь со специалистом bioMérieux)

ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- **Для диагностики *in vitro* и микробиологического контроля.**
- **Только для профессионального использования.** Данный тест предназначен для использования квалифицированными сотрудниками лаборатории.
- **Только для США. Внимание. Согласно федеральному закону США данное изделие допускается к продаже только лицензированным врачам или по их заказу.**
- Данный набор содержит вещества животного происхождения. Сертификат происхождения и/или санитарного состояния животных не гарантирует полностью отсутствия трансмиссивных патогенных агентов. Поэтому рекомендуется обращаться с данными продуктами как с потенциальным источником инфекции, то есть с соблюдением стандартных мер безопасности (не проглатывать и не вдыхать).
- Все образцы, микробные культуры и инокулированные продукты следует считать инфекционными и обращаться с ними соответствующим образом. Во время данной процедуры следует соблюдать правила асептики и меры предосторожности, обычно применяемые при обращении с изучаемой группой бактерий. См. текущую редакцию утвержденного руководства «CLSI M29-A, Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections» («CLSI M29-A. Защита сотрудников лаборатории от инфицирования в профессиональной среде»). Информацию о дополнительных мерах предосторожности см. в последней редакции документа CDC/NIH «Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories» («Биологическая безопасность в микробиологических и биомедицинских лабораториях»).
- Не используйте реагенты после истечения срока их годности.
- Перед использованием удостоверьтесь в целостности упаковки и ее компонентов.
- Не используйте поврежденные стрипы, например стрипы с деформированными лунками или вскрытым влагопоглотителем.
- Стрипы предназначены только для однократного применения и не должны использоваться повторно.
- Перед использованием выдержите реактивы до достижения комнатной температуры.
- Рабочие характеристики, приведенные в техническом руководстве, получены с использованием процедуры, описанной в данном вкладыше в упаковку. Любые изменения данной процедуры могут привести к искажению результатов.
- При интерпретации результатов тестов следует принимать во внимание анамнез пациента, источник образца, морфологию колоний, данные микроскопии для штамма и, при необходимости, результаты других тестов, в частности, теста на определение чувствительности к антимикробным препаратам.

УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ

Стрипы и среды следует хранить при температуре +2 °C/+8 °C до истечения срока годности, указанного на упаковке.

СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Тест-система API 20 A не предназначена для работы непосредственно с клиническими или другими образцами.

Для того, чтобы идентифицировать микроорганизм, необходимо предварительно выделить его чистую культуру на подходящей питательной среде с использованием стандартных микробиологических методов.

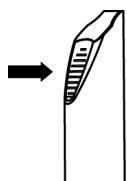
ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Подготовка стрипа

1. Приготовьте контейнер для инкубации (поднос и крышку) и внесите около 5 мл дистиллированной или деминерализованной воды [или любой другой воды, не содержащей химических примесей, которые могут вызвать образование газа (например, Cl₂, CO₂)] в сотовидные ячейки подноса для создания влажной среды.
2. Запишите идентифицирующую информацию об образце на предназначенном для этого поле подноса. (Не делайте надписей с идентифицирующей информацией об образце на крышках, поскольку их можно перепутать в ходе выполнения процедуры теста).
3. Извлеките стрип из упаковки непосредственно перед использованием.
4. Поместите стрип в контейнер для инкубации.

Приготовление суспензии

1. Вскройте ампулу со средой API 20 A Medium.



- Поместите ампулу в протектор.
- Возьмите ампулу в протекторе в руку в вертикальном положении (белым пластиковым колпачком вверх).
- Надавите на колпачок вниз до упора.
- Поместите большой палец на ребристую сторону колпачка и надавите вперед, чтобы вскрыть ампулу.
- Извлеките ампулу из протектора и отложите протектор в сторону для последующего использования.
- Осторожно снимите колпачок.

2. Соберите тампоном всю культуру, выращенную в анаэробных условиях на кровяном агаре или на другой подходящей чашке. Рекомендуется использовать свежие культуры (18–24 ч). Убедитесь в чистоте штамма. (При необходимости выполните пересев, используя для этого хорошо изолированную колонию.)
3. Держите ампулу вертикально и эмульгируйте микроорганизмы путем вращения тампона и трения его об стенку ампулы, не вынимая его при этом из суспензионной среды. Мутность полученной суспензии должна быть не ниже 3 единиц по McFarland: Используйте стандарт мутности McFarland Standard для сравнения или прибор DENSIMAT для измерения. Используйте суспензию сразу после приготовления. Для медленно растущих культур может потребоваться несколько чашек, чтобы получить суспензию вышеуказанной плотности.

Примечание: Для поддержания анаэробных условий избегайте попадания воздуха в среду во время гомогенизации.

Инокуляция стрипа

1. Нанесите на стрип стерильной пипеткой суспензию из ампулы со средой API 20 A Medium. Чтобы избежать образования пузырьков, слегка наклоните стрип вперед.
 - Для теста **[GEL]** заполняйте как пробирку, так и свободное пространство лунки.
 - Для теста **[IND]** заполните только пробирку средой API 20 A Medium, а свободное пространство лунки — минеральным маслом во избежание испарения индола.
2. Закройте поднос крышкой и инкубируйте 24 ч (± 2 ч) при температуре +36 °C ± 2 °C в аэробной камере, мешке или анаэроустате.
3. Избыток среды API 20 A Medium можно использовать для проверки чистоты и жизнеспособности штамма путем инокуляции набора из двух чашек с культуральной средой (в одной из них посев выполняется в аэробных условиях, а во второй — в анаэробных).

УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов стрипа

Примечание: Многие анаэробные бактерии вступают в реакции, результаты которых являются четкими и легко учитываются через 24 ч, но некоторые штаммы растут медленно и могут быть идентифицированы только после 48 ч инкубации.

1. После завершения инкубации проведите учет результатов реакций согласно табл. «Учет результатов».
2. Внесите результаты всех спонтанных реакций в бланк учета результатов.
3. Определите тесты, для которых требуется добавить реактивы:
 - Присутствующий в реакционной среде реактив ВСР может обесцвечиваться при восстановлении. В таком случае добавьте по 1 капле реактива ВСР во все лунки, содержащие углеводы, для выявления реакций

подкисления. Изменение цвета на **желтый** или **желто-зеленый** указывает на **положительную** реакцию, результаты которой вносят в бланк учета результатов.

- Для выполнения теста **IND** внесите 1 каплю реагента XYL в наружный слой минерального масла. Смешайте с помощью палочки для нанесения и оставьте на 2–3 мин. Внесите 1 каплю реагента EHR. Реагент должен плавать поверх слоя ксилена/минерального масла (чтобы не разбавлять цвет в лунке). Проведите учет результатов через 5 мин. Изменение цвета на **красный** указывает на **положительную** реакцию, результаты которой вносят в бланк учета результатов.
- При выполнении теста **CAT** образование каталазы определяется после выдержки стрипов в течение 30 мин на воздухе. Внесите в лунку, в которой наблюдается положительная реакция, 2 капли перекиси водорода (3 %). Появление **пузырьков** указывает на **положительную** реакцию, результаты которой вносят в бланк учета результатов.

Интерпретация

Определение числового профиля

Бланк учета результатов отображает 20 тестов из стрипа API 20 A, а также каталазную реакцию и 3 следующие морфологические характеристики: SPOR для обозначения спор (+,–), GRAM (+,–) и COCC для кокков (+,–). На бланке для учета результатов лунки разделены на группы по три, и каждой лунке присвоено число (1, 2, 4). Для каждой группы сложите числа, соответствующие лункам с положительными реакциями. Таким образом, вы получите 8-значный числовой профиль.

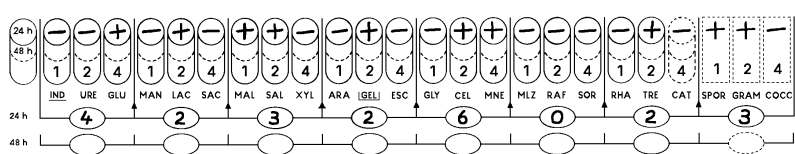
Идентификация

Для идентификации используется числовой профиль, внесенный в программное обеспечение для идентификации APIWEB или ATB NEW. Более подробную информацию о числовом профиле см. в программном обеспечении для идентификации.

- Для идентификации микроорганизма при помощи систем API используют методологию, основанную на имеющихся характеристиках данных, сведениях о микроорганизме и анализируемых реакциях. По результатам анализов известных штаммов было получено достаточное количество данных для оценки типичных реакций заявленных видов на ряд биохимических веществ, используемых для дифференциации микроорганизмов. В случае, если не удастся распознать отдельный образец для идентификации, программа выдает список возможных микроорганизмов или обозначает штамм как отсутствующий в базе данных. Поле комментария в программном обеспечении и/или печатная версия лабораторного отчета содержит рекомендации относительно всех дополнительных тестов, которые необходимо выполнить, чтобы завершить идентификацию. Если тестов недостаточно для завершения идентификации, то следует обратиться к стандартным справочникам по микробиологии и литературе.
- Некоторые виды могут принадлежать к таксонам с низкой дифференциацией (смешанным таксонам). Это происходит в том случае, если для нескольких из перечисленных таксонов указаны идентичные биомаркеры. Для различения таксонов с низкой дифференциацией можно использовать дополнительные тесты.

Список дополнительных тестов приведен в техническом руководстве.

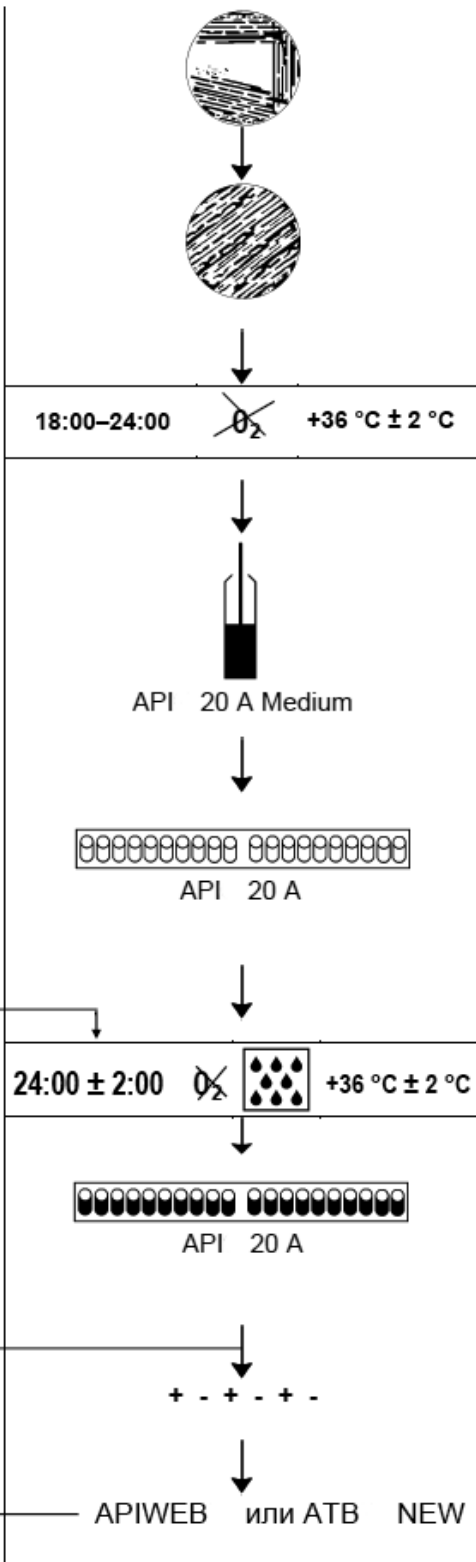
Ниже приведен пример числового профиля.



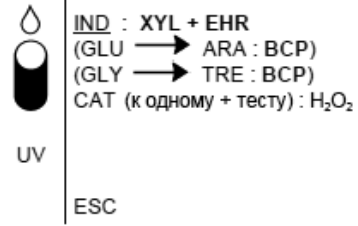
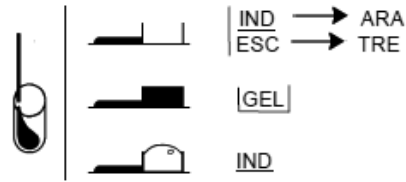
4 232 602 3 Clostridium septicum

ПРОЦЕДУРА

SPOR - GRAM -
COCC



3 McF



Тест
22–23–24

ТАБЛИЦА УЧЕТА РЕЗУЛЬТАТОВ

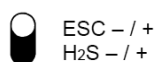
ТЕСТЫ	АКТИВНЫЕ ИНГРЕДИЕНТЫ	КОЛ-ВО (мг/ лунку)	РЕАКЦИИ/ ФЕРМЕНТЫ	РЕЗУЛЬТАТЫ	
				ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ	ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ
IND	L-триптофан	0,98	Образование индола	XYL - перемешать / 2–3 мин + EHR / 5 мин Жёлтый Красный	
URE	Мочевина	0,648	Уреаза	Жёлто-оранжевый	Красный
GLU	D-глюкоза	1,96	Подкисление (глюкоза)	BCP Пурпурный Жёлтый/жёлто-зеленый	
MAN	D-маннит	1,96	Подкисление (маннит)		
LAC	D-лактоза (KPC)	1,96	Подкисление (лактоза)		
SAC	D-сахароза (сахароза)	1,86	Подкисление (сахароза)		
MAL	D-мальтоза	1,96	Подкисление (мальтоза)		
SAL	Салицин	1,64	Подкисление (салицин)		
XYL	D-ксилоза	1,64	Подкисление (ксилоза)		
ARA	L-арабиноза	1,64	Подкисление (арабиноза)		
[GEL]	Желатин (KPC)	0,6	Гидролиз (протеаза) (желатин)	Пигмент не диффундирует ¹⁾	Диффузия черного пигмента ¹⁾
ESC	Эскулин	0,36	Гидролиз (β-глюкозидаза) (эскулин)	Жёлтый ²⁾	Коричнево-чёрный ²⁾
	Железа цитрат	0,11		в УФ-свете (365 нм) Флуоресценция Отсутствие флуоресценции	
GLY	Глицерин	1,82	Подкисление (глицерин)	BCP Пурпурный Жёлтый/жёлто-зелёный	
CEL	D-целлобиоза	1,86	Подкисление (целлобиоза)		
MNE	D-манноза	1,96	Подкисление (манноза)		
MLZ	D-мелицитоза	1,96	Подкисление (мелицитоза)		
RAF	D-раффиноза	2,18	Подкисление (раффиноза)		
SOR	D-сорбит	2,18	Подкисление (сорбит)		
RHA	L-рамноза	1,96	Подкисление (рамноза)		
TRE	D-трегалоза	1,96	Подкисление (трегалоза)		

ТЕСТЫ	АКТИВНЫЕ ИНГРЕДИЕНТЫ	КОЛ-ВО (мг/ лунку)	РЕАКЦИИ/ ФЕРМЕНТЫ	РЕЗУЛЬТАТЫ	
				ОТРИЦАТЕЛЬ- НЫЙ	ПОЛОЖИТЕЛЬ- НЫЙ
CAT		–	Каталаза	Через 30 мин на воздухе Перекись водорода в положительной лунке Пузырьки отсутствуют	Пузырьки
SPOR		–	Споры	Отсутствуют	Присутствуют
GRAM		–	Окрашивание по Грамму	Розовый	Фиолетовый
COCC		–	Морфология	Палочки	Кокки

1) При инкубации в круглом анаэроустате пигмент диффундирует только в нижнюю часть пробирки.

2) Коричнево-чёрный цвет иногда образуется только после того, как стрип подвергся воздействию воздуха — на это следует обращать внимание при учете результатов.

Чёрный цвет может быть обусловлен образованием сульфида железа (FeS) в ходе реакции H₂S с цитратом железа и не указывает на гидролиз эскулина. Эти две реакции можно отличить по тому признаку, что сульфид железа образует чёрный осадок у основания пробирки, в то время как гидролиз эскулина приводит к образованию коричнево-чёрной зоны в верхней части пробирки. Если пробирка полностью чёрная, а также в случае сомнений, тест следует учитывать путем проверки на флуоресценцию в ультрафиолетовом свете.



Указанные количества могут отличаться в зависимости от титра используемого сырья.

Некоторые лунки содержат вещества животного происхождения, в основном пептоны.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Среды, стрипы и реагенты проходят систематический контроль качества на всех стадиях производства.

Если необходимо провести **контроль качества по стандартной процедуре** (всесторонний контроль качества), то для проверки положительных и отрицательных результатов большинства тестов следует использовать указанные ниже штаммы.

1. *Clostridium perfringens* ATCC® 13124™ или один из следующих штаммов:
2. *Bacteroides ovatus* ATCC® 8483™
3. *Clostridium sordellii* ATCC® 9714™

	IND	URE	GLU	MAN	LAC	SAC	MAL	SAL	XYL	ARA
1	–	–	+	–	+	+	+	–	–	–
2	+	–	+	+	+	+	+	+	+	+
3	+	+	+*	–	–	–	+	–	–	–

	GEL	ESC	GLY	CEL	MNE	MLZ	RAF	SOR	RHA	TRE	CAT
1	+*	–	+*	–	+	–	–	V*	–	+	–
2	–	+	–	+	+	+	+	–	+	+	+
3	+	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–

* Этот результат может быть разным в зависимости от используемой среды.

Профили получены после инкубации в течение 24 ч на колумбийском агаре с бараньей кровью.

Проводите контроль качества в соответствии с действующими в стране использования законами и нормативными актами.

Выбор штаммов для контроля качества в большей степени основан на выраженности реакции, а не на том, на наличие какого микроорганизма они указывают.

В целом, идентификация штаммов для контроля качества выполняется путем отнесения их к конкретному таксону, таксонам с низкой дифференциацией или смешанным таксонам.

Существует вероятность неверной идентификации штамма АТСС® при условии получения ожидаемых результатов всех реакций контроля качества.


Примечание: Поскольку со временем возможно изменение названий видов, необходимо сверяться с официальными изданиями по таксономии, чтобы знать о последних обновлениях.

ТЕХНИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО: ИНФОРМАЦИЯ, СВЯЗАННАЯ С ПРОГРАММНЫМ ОБЕСПЕЧЕНИЕМ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ APIWEB И ATB NEW

Техническое руководство содержит полностью всю информацию со следующих разделов:

- Ограничения метода
- Таблица идентификации (%)
- Рабочие характеристики

Чтобы получить доступ к техническому руководству, выполните следующие действия:

- APIWEB
 - Нажмите 
 - Нажмите «ТЕХНИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО».
- ATB NEW
 - Откройте «ТЕХНИЧЕСКОЕ РУКОВОДСТВО», доступное на имеющемся у вас компакт-диске с документацией.

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ





Все использованные либо неиспользованные реактивы, а также любые другие контаминированные расходные материалы следует утилизировать в соответствии с процедурами по утилизации инфекционных или потенциально инфекционных материалов.







Каждая лаборатория обязана обращаться с полученными отходами и стоками в соответствии с их типом и степенью опасности, а также обрабатывать и утилизировать их в соответствии с установленными правилами и нормами.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. DRUGEON, H., BILLAUDEL S., COURTIEU A. L.
Utilisation d'une microgalerie pour l'identification des bactéries anaérobies. (1977) Ann. Biol. Clin., 35, 409-414.
2. ESSERS L., HARALAMBIE E.
Experiences with the API 20 A System in routine species identification of anaerobes. (1977) Zbl. Bakt. Hyg. Parasitenk-1, Abt-A, 238, 394-401.
3. VERSALOVIC J., CAROLL K.C., FUNKE G., JORGENSEN J.H., LANDRY M.L., WARNOCK D.W.
Manual of Clinical Microbiology. 10th Edition. (2011) American Society for Microbiology, Washington, D.C.
4. NORD C.E., DAHLBACK A., WADSTROM T.
Evaluation of a Test Kit for Identification of Anaerobic Bacteria. (1975) Med. Microbiol. Immunol., 161, 239-242.
5. STARR S.E., THOMPSON F.S., DOWELL V.R., BALOWS A.
Micromethod System for Identification of Anaerobic Bacteria. (1973) Appl. Microbiol., 25, 713-717.

ТАБЛИЦА СИМВОЛОВ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

Символ	Обозначение
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Только для США. Внимание. Согласно федеральному закону США данное изделие допускается к продаже только лицензированным врачам или по их заказу.
	Изготовитель

Символ	Обозначение
	Температурный диапазон
	Использовать до
	Код партии
	Обратитесь к инструкции по применению
	Содержимого достаточно для проведения n-количества тестов
	Дата изготовления
	Влажная среда

ОГРАНИЧЕННАЯ ГАРАНТИЯ

Компания bioMérieux гарантирует, что рабочие характеристики данного изделия соответствуют указанному предусмотренному назначению в течение всего срока эксплуатации при условии, что строго соблюдены все процедуры по использованию, хранению и обработке и меры безопасности, как подробно изложено в инструкциях по эксплуатации.

За исключением вышеуказанных случаев, компания bioMérieux не дает никаких гарантий, в том числе подразумеваемых гарантий товарного качества и гарантий соответствия предполагаемому использованию, и не дает никаких обязательств, в том числе явно выраженных, подразумеваемых или косвенных, в отношении использования какого-либо реагента, программного обеспечения, прибора и расходных материалов (далее — «Система»), отличного от указанного в инструкциях по эксплуатации.

ИСТОРИЯ ПЕРЕСМОТРОВ

Категории типов изменений

Н/П	Не применимо (первое издание)
Корректурa	Исправление ошибок в документации
Технические изменения	Добавление, пересмотр и/или удаление касающейся продукта информации
Административные изменения	Введение изменений нетехнического характера, заслуживающих внимания пользователя

Примечание. Незначительные типографские, грамматические изменения и изменения в форматировании в историю пересмотров не включены.

Дата выпуска	Номер версии	Тип изменений	Обзор изменений
2019/09	07882 I	Административные изменения	Изменения для приведения текста в соответствие с шаблонами и руководствами по стилю bioMérieux, а также нормами RECAST.

Для получения технической консультации и поддержки просьба обращаться к уполномоченному представителю производителя на территории Российской Федерации:

ООО «биоМерье Рус»

Адрес: Россия, 115230, Москва, 1-ый Нагатинский проезд, д. 10, стр. 1

Тел./факс: +7 (495) 221 10 79

Телефон горячей линии: 8 (800) 250 10 79

e-mail: info.russia@biomerieux.com

веб-сайт: www.biomerieux-russia.com

В случае выявления побочных действий, не указанных в инструкции по применению или руководстве по эксплуатации медицинского изделия, нежелательных реакций при его применении, особенностей взаимодействия медицинских изделий между собой, фактов и обстоятельств, создающих угрозу жизни и здоровью граждан и медицинских работников при применении и эксплуатации медицинских изделий, необходимо направить сообщение, содержащее указанные сведения, в Федеральную службу по надзору в сфере здравоохранения в соответствии с действующим законодательством.

BIOMERIEUX, логотип BIOMERIEUX, ATB, API, APIWEB и ATB NEW являются используемыми, зарегистрированными и/или находящимися в процессе регистрации товарными знаками, принадлежащими компании bioMérieux, одной из дочерних или входящих в ее группу компаний.

CLSI является товарным знаком, принадлежащим Clinical Laboratory and Standards Institute, Inc.

Товарный знак и товарное имя ATCC, а также любые номера по каталогу ATCC — товарные знаки компании American Type Culture Collection.

Другие названия и товарные знаки принадлежат их законным владельцам.

Для пользователей в Европейском Союзе (регламент (EU) 2017/746) и странах с аналогичными требованиями: в случае серьезного происшествия во время использования этого устройства или в результате его использования сообщите об этом производителю и (или) его уполномоченному представителю, а также в национальный орган.