

УТВЕРЖДЕНА

Приказом Росздравнадзора
от _____ 20__ г.
№ _____

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
ООО «Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»



О.Н.Шлюндин
2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов
«ДС-ДИФ-САЛЬМОНЕЛЛА»

**Тест-система для биохимической идентификации и межвидовой
дифференциации сальмонелл**

Набор № 3

СОГЛАСОВАНО
Директор ФГБУ
«ГИСК им. Л. А. Тарасевича»
Минздравообразования России



И.В. Борисевич
2010 г.

Содержание

I. Назначение.....	3
II. Состав набора «ДС-ДИФ-САЛЬМОНЕЛЛА».....	3
III. Меры предосторожности	3
IV. Инструкции по безопасности.....	4
V. Необходимые материалы и оборудование, не предоставляемые с набором реагентов	4
VI. Отбор и подготовка образцов	4
VII. Проведение анализа.....	5
VIII. Учет результатов.....	5
IX.. Срок годности. Условия хранения и транспортировки.....	6
X. Объяснение символов.....	6

Набор рассчитан на идентификацию и дифференциацию до вида и подвида по 8-и биохимическим признакам 24 штаммов сальмонелл, выделенных в ходе бактериологического анализа. Возможно дробное 24-х кратное использование набора на протяжении срока его годности.

I. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор «ДС-ДИФ-САЛЬМОНЕЛЛА» предназначен для определения ферментативной активности микроорганизмов рода *Salmonella*, выделяемых в ходе бактериологического анализа, и идентификация их до вида и подвида. Тест-система позволяет определить следующие биохимические свойства сальмонелл: утилизацию цитрата натрия, малоната натрия, сорбита, дульцита, лактозы; наличие β -галактозидазы, декарбоксилаз орнитина и лизина. Тест-система может быть использована в медицинской и ветеринарной практике.

II. СОСТАВ НАБОРА «ДС-ДИФ-САЛЬМОНЕЛЛА»

Характеристики реагентов	Форма выпуска
Стрипы планшета полистиролового 96-луночного разборного, на дно лунок которых нанесены соответствующие субстратно-индикаторные питательные среды, стабилизированные поливиниловым спиртом. Цвет субстрата в лунке зависит от применяемого индикатора и pH субстрата: лунки А, В, С, D (тесты с цитратом натрия, лизином, орнитином, малонатом натрия) коричнево-желтого цвета, лунки Е (тест на β -галактозидазу) белого цвета, лунки F, G, H (тесты с лактозой, сорбитом, дульцитом) оранжевого цвета.	24 шт. – 6 пакетов
0,85% раствор натрия хлорида pH от 6,7 до 7,2, стерильный. Прозрачная бесцветная жидкость.	40,0 мл – 2 фл.

Реагенты помещают в коробку картонную или пакет полиэтиленовый, куда вкладывают инструкцию по применению.

Дополнительно в состав набора входят:

Крышка для планшета стерильная	1 шт.
Полиэтиленовый пакет	2 шт.
Рамка для стрипов	2 шт.
Бланк учета результатов	2 шт.
Таблица биохимических свойств сальмонелл	1 шт.
Каталог кодов	1 шт.
Кодовые карточки	24 шт.

III. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

• Набор тест-системы не содержит в своем составе каких-либо опасных биологических агентов. Компоненты, составляющие набор тест-системы не представляют химической опасности (не являются наркотиками, ядами, взрывчатыми веществами и ЛВЖ).

• Работы в лаборатории, связанные с идентификацией сальмонелл, проводить с соблюдением требований санитарно-эпидемиологического режима, в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами 3-4 групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

• Пробирки с культурами и использованные стрипы планшета обезвреживать автоклавированием в паровом стерилизаторе в течение часа при температуре от 124 до 128 °С под давлением 1,5 кгс/см² (0,15 МПа) или замачивать на 24 ч в 3 % раствор хлорамина Б или 3 % раствор перекиси водорода с 0,5 % СМС. Допустимо применение другого разрешенного к использованию дез. средства. Крышку для планшета 2 раза протереть 70 % этиловым спиртом. После обезвреживания рамку планшета и крышку можно использовать повторно. Микродозаторы до и после работы необходимо протереть 2 раза 70 % этиловым спиртом.

IV. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ.

- Все реагенты набора предназначены для диагностики «in vitro».
- При работе с реагентами набора и исследуемыми образцами необходимо использовать лабораторную одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.
- Соблюдать меры предосторожности при работе со спиртовкой или газовой горелкой.
- Необходимо избегать распыливания образцов или растворов, содержащих образцы.
- При распыливании образцов или растворов, содержащих образцы необходимо протереть поверхность раствором гипохлорита натрия, разведенным до 10%. Используемый материал должен быть сброшен в контейнер для загрязненных отходов.

V. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ.

- термостат, поддерживающий температуру $(37,0 \pm 0,5)$ °С;
- пипетки стерильные стеклянные концевые калиброванные 2 класса точности на 1 мл и 5 мл или дозаторы пипеточные переменного объема одноканальные (с погрешностью измерения не более 5%), со стерильными наконечниками;
- пробирки стеклянные, стерильные;
- отраслевой стандартный образец мутности бактериальной взвеси стеклянный (ОСО) на 5 единиц или 2 степени по шкале MacFarland.
- спиртовка, бактериологические петли.

При необходимости проведения проверки функциональности набора следует использовать контрольные штаммы из коллекции ГИСК им. Тарасевича. Характеристика свойств контрольных штаммов представлена в таблице 2

Таблица 2

Характеристика контрольных штаммов

№	Тесты	<i>Escherichia coli</i> №1882	<i>Klebsiella pneumoniae</i> №579	<i>Proteus vulgaris</i> HX19 №222	<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>diarizonae</i> 735-60/210
1	Утилизация цитрата натрия	-	+	±	+
2	Наличие лизиндекарбоксилазы	+	+	-	+
3	Наличие орнитидекарбоксилазы	+	-	-	+
4	Утилизация малоната натрия	-	+	-	+
5	Наличие β-галактозидазы	+	+	-	+
6	Утилизация лактозы	+	+	-	+зам*
7	Утилизация сорбита	+	+	-	-
8	Утилизация дульцита	-	+	-	-
9	Образование сероводорода	-	-	+	+
10	Образование газа из глюкозы	+	+	-	+

зам*- замедленно (от 36 до 42 часов инкубации)

VI. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ.

Исследование проводить с чистой культурой, после определения принадлежности к семейству *Enterobacteriaceae* (грамотрицательные, оксидазотрицательные палочки, утилизирующие глюкозу в аэробных и анаэробных условиях по тесту Хью-Лейфсона, подвижные и неподвижные), подозрительные на сальмонеллы по характеру роста на трехсахарном агаре типа Олькеницкого.

Для работы использовать культуры, выращенные от 18 до 24 ч при температуре $(37,0 \pm 0,5)$ °С на поверхности питательного агара: СПА, МПА, ГРМА, Мартеновский или Хоттингера (можно с добавлением 5 % крови). Если культура микроорганизма находилась какое-либо время на хранении при комнатной температуре или в холодильнике, производят предварительный посев ее в питательный бульон на 2-4 ч при температуре $(37,0 \pm 0,5)$ °С, затем осуществляют пересев

культуры на поверхность питательного агара и инкубируют от 18 до 24 ч при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

Стерильной пипеткой отмерить по 2,0 мл стерильного 0,85% раствора натрия хлорида pH от 6,7 до 7,2 из флакона в стерильные пробирки (по количеству исследуемых культур). Из суточной агаровой культуры приготовить суспензию в 0,85% растворе натрия хлорида, подогретом до температуры 30-35 $^\circ\text{C}$. Густоту суспензии довести до 5 единиц по отраслевому стандартному образцу мутности бактериальных взвесей, стеклянному, или второй степени по шкале McFarland. Приготовленную микробную суспензию до начала исследования хранить не более 30 минут.

VII. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

1. На прилагаемом к набору бланке учета результатов зарегистрировать номера испытуемых культур.

2. Вынуть из пакета необходимое количество стрипов и поместить их в рамку (цветная маркировка на ярлычке стрипа – к лунке Н). Для удобства в работе и исключения ошибок при внесении микробной суспензии стрипы можно раздвинуть.

3. Внести стерильно пипеткой по 0,1 мл микробной суспензии в лунки одного вертикального ряда (стрипа). Тесты расположены в вертикальном направлении, один стрип – один анализ; возможно применение автоматического пипеточного дозатора с использованием наконечников с защитными фильтрами.

4. Рамку со стрипами накрыть крышкой и поместить в пакет, завернув край пакета вниз.

5. Планшет инкубировать при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ в течение от 16 до 24 ч.

VIII. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

а) Учет результатов проводить визуально в соответствии с цветовым указателем (таблица 3) через 16-24 ч инкубации (учет теста на обнаружение β -галактозидазы возможно проводить через 2 - 4 ч).

Значение тестов 9 (образование сероводорода) и 10 (образование газа из глюкозы) следует взять со среды Олькеницкого или аналогичного трехсахарного агара.

Таблица 3

Цветовой указатель

Название теста	Цвет растворенного субстрата	Критерии оценки	
		Положительный результат	Отрицательный результат
		Смена окраски субстрата на:	
А Утилизация цитрата натрия	Желтый, светло-зеленый	Темно-зеленый, синий, голубой	Желтый, светло-зеленый
В Наличие лизиндекарбоксилазы	Желтый, светло-зеленый	Темно-зеленый, синий, голубой	Желтый, светло-зеленый
С Наличие орнитиндекарбоксилазы	Желтый, светло-зеленый	Темно-зеленый, синий, голубой	Желтый, светло-зеленый
Д Утилизация малоната натрия	Желтый, светло-зеленый	Темно-зеленый, синий, голубой	Желтый, светло-зеленый
Е Наличие β -галактозидазы	Бесцветный	Лимонно-желтый	Бесцветный
Ф Утилизация лактозы	Красный	Желтый, оранжевый	Красный
Г Утилизация сорбита	Красный	Желтый, оранжевый	Красный
Н Утилизация дульцита	Красный	Желтый	Красный

б) Последующую идентификацию культур микроорганизмов проводить с использованием таблицы биохимических свойств сальмонелл и каталога кодов (прилагаются).

Возможна автоматизированная процедура идентификации микроорганизмов рода *Salmonella* с использованием «Программного обеспечения для автоматизированной идентификации бактерий»

производства ООО «НПО «Диагностические системы», которое позволяет идентифицировать сальмонеллы как методом кодов (при типичном поведении штаммов), так и методом расстояний на основе кластерного анализа (при атипичном поведении штаммов). «Программное обеспечение» в состав набора не входит.

Для определения сероварианта сальмонелл необходимо провести серотипирование с агглютинирующими сальмонеллезными сыворотками в реакции агглютинации на стекле.

IX. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ




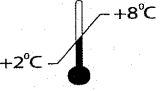


Срок годности набора - 12 месяцев. После истечения срока годности препарат использованию не подлежит.

Транспортирование наборов должно производиться при температуре от 2 до 8 °С, Замораживание не допускается. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С в течение 10 сут. Набор должен храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности.

В случае дробного использования набора, оставшиеся не использованными реагенты хранить: 0,85% раствор натрия хлорида, стрипы с дифференцирующими субстратами после вскрытия пакета - в течение срока годности тест-системы при температуре от 2 до 8 °С.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу 119002, Россия, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел.: (499) 241-39-22, факс: (499) 241-92-38 и в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно производственное объединение «Диагностические системы» Россия, 603093, Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.nnov.ru, www.npods.ru.

X. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/СЕ по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования
	Номер партии (серии)
	Температурные пределы хранения
	Срок годности дата/месяц/год
	Используйте инструкцию по применению

Директор по производству
 ООО «Научно-производственное объединение
 «Диагностические системы»



В.К. Пименов