

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра здравоохранения
Республики Беларусь
Б.Н. Андросюк
«04» 06 2020 г.



УТВЕРЖДАЮ
Директор по НИР ВГМУ
С.А. Сушков
2020 г.



ТЕСТ-СИСТЕМА «ИД-СТРЕП» ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ СТРЕПТОКОККОВ

инструкция по применению

СОГЛАСОВАНО
Директор
РУП «Центр экспертиз и
испытаний в здравоохранении»
С.И. Марченко
«03» 06 2020



СОГЛАСОВАНО
Главный врач УЗ «Городская инфекционная
клиническая больница», г. Минска.
Н.Н. Юровский
«05» 06 2020



СОГЛАСОВАНО
Главный врач УЗ «Пинская центральная
больница»
О.Н. Головки
«06» 06 2020



СОГЛАСОВАНО
Главный врач ГУ «Брестский
областной ЦГЭиОЗ»
Е.В. Ильяшева
«11» 06 2020



Минск 2020

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ ТЕСТ-СИСТЕМА «ИД-СТРЕП» ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ СТРЕПТОКОККОВ

Тест-система «ИД-СТРЕП» для идентификации стрептококков предназначена для определения видовой принадлежности стрептококков после 18-24 ч инкубации. Учёт идентификации возможен визуально или инструментально с помощью анализатора иммуноферментного Ф300ТП и компьютера с программным обеспечением.

Стандартные количества бактериальной взвеси вносятся в лунки планшета, содержащего дегидрированные субстраты с индикатором или хромогенные субстраты. После инкубации производится визуальный или инструментальный учёт. Штаммы, имеющие ферментативную способность, расщепляют соответствующие субстраты с изменением цвета содержимого лунок планшета. При отсутствии ферментативной способности изменения цвета содержимого лунок не происходит.

1 НАЗНАЧЕНИЕ

1.1 Тест-система «ИД-СТРЕП» для идентификации стрептококков предназначена для определения видовой принадлежности стрептококков.

Область применения тест-системы – клиническая медицина.

2 СОСТАВ НАБОРА

2.1 Компоненты тест-системы «ИД-СТРЕП» для идентификации стрептококков:

96-луночный плоскодонный планшет – 1 шт с вложенным пакетиком силикагеля;

Стерильная деионизированная вода объемом (5±0,1) мл, во флаконе – 4 шт.;

Наконечники полипропиленовые стерильные для автоматических дозаторов вместимостью 200 мкл – 4 шт;

2.2 Необходимые реактивы не включенные в набор:

Реагент НИН 1 флакон

Реагент ВП А + ВП В 1 флакон

Реагент ФБ 1 флакон

2.3 Планшет содержит 96 лунок (8 рядов по 12 лунок, по 2 ряда – 24 лунки для идентификации одного штамма микроорганизма). Всего планшет позволяет идентифицировать четыре штамма микроорганизмов.

2.4 Концентрации субстратов в лунках планшета (в мг/лунка после внесения бактериальной взвеси) представлены в таблице 1

Таблица 1 Концентрации субстратов в лунках планшета (в мг/лунка после внесения бактериальной взвеси)

Обозначения субстратов для рядов:	Номер лунки											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
- А, С, Е, G	Риб 0,55	Ман 0,55	Лак 0,55	Тре 0,55	Раф 0,55	Сак 0,55	Лара 0,55	Цдекс 0,275	Пул 0,55	Мал 0,55	Мел 0,55	Млз 0,55
- В, D, F, H	Мбдг 0,55	Таг 0,55	Пал 0,084	α-гал 0,096	β-гал 0,038	Пир-А 0,254	β-глю 0,0032	β-гар 0,0032	Вп 0,19	Гип 1,5		

Сокращённые названия субстратов с концентрациями и примечаниями по оценке результатов представлены в таблице 2.

Таблица 2 Сокращённые наименования субстратов с концентрациями и примечаниями по оценке результатов

Тест	Активный ингредиент	Кол-во (мг/лунка)	Реакция/фермент	Результат	
				Отрицательный	Положительный
1	2	3	4	5	6
РИБ	D-рибоза	0,55	утилизация (подкисление)	красная	желтая, желто-оранжевая
МАН	D-маннит	0,55	утилизация (подкисление)		
ЛАК	D-лактоза	0,55	утилизация (подкисление)		
ТРЕ	D-трегалоза	0,55	утилизация (подкисление)		
РАФ	D-раффиноза	0,55	утилизация (подкисление)		
САК	D-сахароза	0,55	утилизация (подкисление)		

ЛАРА	L-арабиноза	0,55	утилизация (подкисление)	красная	желтая, желто-оранжевая
ЦДЕКС	α -циклодекстрин	0,275	утилизация (подкисление)		
ПУЛ	пуллулан	0,55	утилизация (подкисление)		
МАЛ	D-мальтоза	0,55	утилизация (подкисление)		
МЕЛ	D-мелибиоза	0,55	утилизация (подкисление)		
МЛЗ	D-мелицитоза	0,55	утилизация (подкисление)		
МБДГ	метил- β D-глюкопиранозид	0,55	утилизация (подкисление)		
ТАГ	D-тагатоza	0,55	утилизация (подкисление)		
ПАЛ	4-нитрофенил- β D-галактопиранозид	0,084	щелочная фосфатаза	бесцветная	желтая
α -ГАЛ	4-нитрофенил- α D-галактопиранозид	0,096	α -галактозидаза	бесцветная	желтая
β -ГАЛ	2-нафтил- β D-галактопиранозид	0,038	β -галактозидаза	бесцветная	оранжевая
ПИР-А	пироглютаминат- β -нафтиламид	0,254	пироглютаминат-ариламидаза	бесцветная	оранжевая
β -ГЛЮ	резорурфин- β D-глюкопиранозид	0,0032	β -глюкозидаза	бледно-оранжевая	флюоресц. розовая
β -ГАР	резорурфин- β D-галактопиранозид	0,0032	β -галактозидаза	оранжевая	флюоресц. розовая
ВП	натрия пируват	0,19	образование ацетоина (Фогеса-Проскауэра)	бесцветная	темно-зеленая
ГИП	натрия гипсурат	1,5	гидролиз	бесцветная	темно-синяя

3 ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

3.1 Флаконы со средой и планшеты должны быть выдержаны при температуре от 18 до 30°C 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°C с ценой деления 0,1°C;
- 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 3 оптические единицы *McFarland* ;
- анализатор иммуноферментный Ф300ТП;
- программное обеспечение «bactoSTREP»;
- IBM совместимый компьютер.

3.4 Для выделения культуры используйте среду для стрептококков.

4 МЕТОДИКА ПОСТАНОВКИ

4.1 Выньте планшет из упаковки, удалите пакетик с силикагелем.

4.2 В стерильный флакон внесите (4±0,1) мл стерильной деионизированной воды.

4.3 Приготовьте взвесь бактерий.

Для этого бактериологической петлей внесите одну или более колоний бактерий, выращенных в течение 18-24 ч при 37°C на среде для стрептококков, в стерильный флакон с (4±0,1) мл стерильной деионизированной воды.

Оптическая плотность взвеси в пробирке после внесения микроорганизма должна соответствовать 3 оптическим единицам *McFarland*. Этого можно достичь путем:

- измерения на денситометре или на спектрофотометре при длине волны 550 нм – 1,0 OD, что составляет $1,2 \times 10^9$ КОЕ/мл;
 - сравнения со стандартом оптической плотности 3 *McFarland*;
- 4.4 Гомогенизируйте суспензию и внесите по $(135 \pm 0,1)$ мкл суспензии в лунки планшета.
- 4.5 Накройте планшет крышкой.
- 4.6 Инкубируйте при температуре $(36 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 18-24 часов в аэробных условиях.

5 УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

5.1 Внесите в лунки по одной капле следующих реактивов (обязательно воспользуйтесь таблицей 1 для того чтобы избежать ошибки):

- Лунка ВП: по две капли реактивов ВП А и ВП В.
- Лунка ГИП: две капли реактива НИН.
- Лунка β -ГАЛ и ПИР-А: по две капли реактива ФБ.

5.2 Произведите учет результатов через 5 минут (но не позднее, чем через 10 минут):

- АВТОМАТИЧЕСКИЙ с помощью программного обеспечения «*bactoSTREP*»,
- ВИЗУАЛЬНЫЙ учет (на партию тест-систем прилагается цветная таблица): см. таблицу 2.

6 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ПРИМЕНЕНИЯ НАБОРА

6.1 Тест-система должна храниться при температуре плюс $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ на протяжении всего срока годности.

6.2 Флаконы со средой и планшеты перед постановкой опыта должны быть выдержаны при температуре $18-30^\circ\text{C}$ 20 минут.

6.3 Для исследования необходимо использовать только 18-24 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 только в температурном режиме $35-37^\circ\text{C}$. При повышении или понижении температуры возможен некорректный результат.

6.7 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 $(120 \pm 2)^\circ\text{C}$ давлении $(0,11 \pm 0,02)$ мПа $(1,1 \pm 0,2)$ кгс/см² в течение (45 ± 3) мин, сожжены или дезинфицированы погружением в раствор хлорамина Б с массовой долей 0,5 % с экспозицией 30 мин.

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

7 ФОРМА ВЫПУСКА

7.1 Планшет позволяет идентифицировать четыре штамма микроорганизмов по их субстратному профилю на основании 22 тестов.

7.2 Компоненты тест-системы в виде комплекта, включающего 1 планшет с субстратами с вложенным в него пакетиком с силикагелем, 4 флакона стерильной деионизированной воды объемом $(5 \pm 0,1)$ мл, 4 наконечника стерильных для автоматических дозаторов вместимостью 200 мкл, инструкцию по применению, помещаются в коробку из картона коробочного.

8 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ

8.1 Хранение тест-системы должно производиться при температуре плюс $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ на протяжении всего срока годности.

8.2 Транспортирование тест-системы осуществлять при температуре плюс $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ 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.

Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет