Тест-система «ИД-СТРЕП» для идентификации стрептококков предназначена для определения видовой принадлежности стрептококков в полужидкой среде после 4-6 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 одержимого 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;

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

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

Стандартный образец оптической плотности 3 оптические единицы объемом (4±0,1)мл (McFarland) – 1 шт. (включается по заказу при отсутствии денситометра);

Реактив МИН – 1 флакон;

Реактив ВП А + ВП В – 1 флакон;

Реактив ФБ – 1 флакон

2.2 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.

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

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

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
- A, C, E, G	Адг 0,76	β-глю 0,0032	β-гар 0,0032	β-Гур 0,0032	α-гал 0,096	Пал 0,084	Риб 0,55	Ман 0,55	Лак 0,55	Тре 0,55	Раф 0,55	Сак 0,55
- B, D, F, H	Лара 0,55	Цдекс 0,275	Вп 0,19	β-гал 0,038	ПирА 0,0254	Гип 1,5	Мал 1,52	Пул 0,55	Мел 0,55	Млз 0,55	Мбдг 0,55	Таг 0,55

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
АДГ	L-аргинин	0,76	уреаза	желтая	красная, фиолетовая
β-ГЛЮ	резоруфин-βDглюкопиранозид	0,0032	β-глюкозидаза	оранжевая	красно-оранжевая
β-ГАР	резоруфин-βDгалактопиранозид	0,0032	β-галактозидаза		
β-ГУР	резоруфин-βD-глюкуронид	0,0032	β-галактозидаза		
α-ГАЛ	4-нитрофенил-αDгалактопиранозид	0,096	ß-галактозидаза	бесцветная	желтая
ПАЛ	4-нитрофенил-βDгалактопиранозид-2-СНА	0,084	β-глюкозидаза		
РИБ	D-рибоза	0,55	ß-глюкозидаза		
МАН	D-маннит	0,55	ß-глюкоронидаза		
ЛАК	D-лактоза	0,55	N-ацетил-ßD-глюкозаминидаза		

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

ТРЕ	D-трегалоза	0,55	утилизация		
РАФ	D-раффиноза	0,55	утилизация	красная	желто-оранжевая
САК	D-сахароза	0,55	утилизация		
ЛАРА	L-арабиноза	0,55	глютаминат-декарбоксилаза	желто-зеленая	голубая
ЦДЕКСВП	α-циклодекстрин натрия пируват	0,275 0,19	восстановление нитратов	НИТ1 + НИТ2 /5 мин <10 мин	
				бесцветная	красная
β-ГАЛ	2-нафтил-βDгалактопиранозид пироглютаминат-β-нафтиламид	0,038	β-галактозидаза	ФБ/5 мин < 10 мин	
				бесцветная	розовая
ГИП	натрия гиппурат	1,5	гидролиз	МИН/5 мин < 10 мин	
				бесцветная	голубая
МАЛ	D-мальтоза	0,55	подкисление	красная; красно-оранжевая	желто-оранжевая
ПУЛ	пуллулан	0,55	подкисление		
МЕЛ	D-мелибиоза	0,55	подкисление		
МЛЗ	D-мелицитоза	0,55	подкисление		
МБДГ	метил-βD-глюкопиранозид	0,55	подкисление		
ТАГ	D-тагатоза	0,55	утилизация	красная	желтая

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;

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

- дозаторы автоматические с погрешностью 1 % объёмом т 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 культивирования облигатно анаэробных микроорганизмов.

4 МЕТОДИКА ПОСТАНОВКИ

4.1 Выньте планшет из упаковки, удалите поглотитель влаги.

4.2 В стерильный флакон внести (2±0,1) мл стерильной деионизированной воды.

4.3 Приготовить взвесь бактерий.

Для этого бактериологической петлей внести одну или более колоний бактерий, выращенных в течение 18-24 ч при 37°С на селективной среде для стрептококков, в стерильный флакон с (2±0,1) мл стерильной деионизированной воды.

Оптическая плотность взвеси в пробирке после внесения микроорганизма должна соответствовать 4 оптическим единицам *McFarland*. Этого можно достичь путем:

- измерения на денситометре или на спектрофотометре при длине волны 550 нм – 1,0 OD (составляет 1,2х 10^9 КОЕ/мл);
- сравнения со стандартом оптической плотности 3 *McFarland*;

4.4 Гомогенизируйте суспензию и внесите по (150±0,1) мкл суспензии в лунки планшета.

4.5 Накройте планшет крышкой.

4.6 Инкубировать при температуре (36±2)°С в течение 18-24 часов в аэробных условиях..

Б.5 УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Б.5.1 Внесите в лунки по одной капле следующих реактивов:

- Лунка ВП: по одной капле реактивов ВП А и ВП В.
- Лунка ГИП: одну каплю реактива МИН.
- Лунка β-ГАЛ одну каплю реактива ФБ.

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

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

- АВТОМАТИЧЕСКИЙ с помощью программного обеспечения «bactoSTREP»,

- ВИЗУАЛЬНЫЙ учет: см. таблицу Б2.

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 18-30 °С 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 ^{0}С. При повышении или понижении температуры возможен некорректный результат.

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

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 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, 1 пакетик с силикагелем , 4 флакона стерильной деионизированной воды

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

объемом (5±0,1) мл, 4 наконечника 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 1 флакон стандартного образца оптической плотности 3 оптические единицы *McFarland*, объемом (4±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