

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор ООО НПО «Иммунотэкс»

М.В. Батурич

« _____ » _____ 20__ г.

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Набор реагентов «Мультимикротесты для биохимической идентификации грамотрицательных бактерий - возбудителей нозокомиальных инфекций (ММТ Грам(-))» по проекту ТУ 9398-013-73678649-2016

производства ООО НПО «Иммунотэкс»

1. НАЗНАЧЕНИЕ.

1.1. Набор позволяет определить ферментативную активность энтеробактерий и других неферментирующих грамотрицательных бактерий - возбудителей нозокомиальных инфекций, выделяемых в ходе бактериологического анализа, и их идентификацию.

1.2. Набор рассчитан на проведение 18 анализов.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА.

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА.

Идентификация грамотрицательных бактерий с помощью набора ММТ Грам(-) основана на определении у этих микроорганизмов ферментных систем, действующих на соответствующие субстраты.

Набор ММТ Грам(-) позволяет определить следующие биохимические свойства: ферментацию глюкозы, наличие уреазы, лизиндекарбоксилазы, орнитиндекарбоксилазы, аргининдегидролазы, образование сероводорода, индола, наличие фенилаланиндезаминазы, β -галактозидазы, утилизацию цитрата натрия, малоната натрия, окисление лактозы, маннита, арабинозы, глюкозы, наличие нитратредуктазы.

Дополнительно выполняется тест на оксидазу.

2.2. СОСТАВ НАБОРА.

В состав набора входят следующие компоненты, готовые к применению:

- планшет полимерный разборный с ММТ Грам(-), состоящий из шести двухрядных блоков, заклеенных стерильной пленкой (далее по тексту - защитная пленка) - 3 шт.;
- масло вазелиновое стерильное - вязкая прозрачная бесцветная или с желтоватым оттенком жидкость, 8 мл - 1 флакон;
- реактив по Эрлиху - прозрачная жидкость светло-желтого или желтого цвета, 2,5 мл - 1 флакон;
- раствор хлорида железа (III) 10% - прозрачная жидкость желто-коричневого цвета, 2,5 мл - 1 флакон;
- раствор риванола 1% - прозрачная жидкость желтого или желто-коричневого цвета, 2,5 мл - 1 флакон;
- раствор кислоты хлористоводородной 1% - прозрачная бесцветная жидкость, 2,5 мл - 1 флакон;

3. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ.

3.1. Материалом для исследования служат культуры бактерий, выделенные из нативного материала (кровь при септицемии, ликвор при менингите, гной и раневое отделяемое при инфицированных ранах и ожоговых поражениях, моча при инфекциях мочевых путей, мокрота при инфекциях дыхательных путей и др.).

3.2. Подозрительные колонии, выросшие на средах для первичной дифференциации (среда Эндо, Олькеницкого, Клиглера, висмут-сульфит-агар, псевдоселагар и др.), используют для идентификации или подращивания на питательном агаре в течение 18-24 ч при температуре (37 ± 1) °С. Параллельно делают посев суспензии на чистоту.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

4.1. Потенциальный риск применения набора - класс 2б.

4.2. При работе с набором следует соблюдать «Правила устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР» (Москва, 1981 г.).

4.3. При работе с набором следует надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки.

4.4. Культуры бактерий и использованные блоки с ММТ Грам(-) обезвреживают в 3% растворе хлорамина Б или в 6% растворе перекиси водорода в течение 20-24 ч, или автоклавируют при температуре (120 ± 2) °С 1 ч.

5. ОБОРУДОВАНИЕ, МАТЕРИАЛЫ, РЕАГЕНТЫ, НЕОБХОДИМЫЕ ПРИ РАБОТЕ С НАБОРОМ.

- термостат суховоздушный, поддерживающий температуру (37 ± 1) °С;
- холодильник бытовой;
- пипетки стеклянные мерные вместимостью 1,0-2,0 мл;
- пипетки полуавтоматические одноканальные и многоканальные варьирующие со сменными наконечниками, позволяющие отбирать объемы жидкости 10-300 мкл;
- груша резиновая;
- пробирки биологические;
- стандарт мутности по МакФарланду 2,0;
- спиртовка;
- микробиологическая петля;
- штатив для пробирок;
- вода очищенная стерильная;
- маркер.

6. ПОДГОТОВКА К АНАЛИЗУ.

6.1. Пользуясь общепринятыми в микробиологии методами, выделяют чистую культуру возбудителя.

6.2. Извлекают набор из холодильника. В рамку-держатель помещают необходимое количество блоков (2 стрипа - 1 блок - 1 анализ) и оставляют при комнатной температуре на 30-60 мин.

6.3. Для удобства в работе и исключения ошибок при внесении бактериальной суспензии блоки можно раздвинуть.

6.4. Если выделенная культура хранилась при температуре от 2 до 8 °С, производят предварительный посев ее на питательный бульон. Посев инкубируют 5-7 ч при температуре (37 ± 1) °С, затем производят пересев культуры на скошенный питательный агар. Через 18-24 ч инкубации при температуре (37 ± 1) °С выросшую культуру используют для приготовления бактериальной суспензии в очищенной воде.

6.5. Доводят густоту суспензии по стандарту мутности МакФарланда 2,0.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

7.1. Для проведения анализа одной культуры используют один блок.

7.2. На прилагаемом к набору бланке учета регистрируют номер засеваемой культуры.

7.3. Снимают защитную пленку с блока.

7.4. Во все лунки блока стерильной градуированной или полуавтоматической пипеткой вносят по 0,15 мл или 2-3 капли приготовленной суспензии.

7.5. Параллельно делают посев суспензии для проверки чистоты культуры, ее ростовых свойств и для выполнения дополнительных тестов (в случае необходимости).

7.6. Для создания анаэробных условий вносят с помощью прилагаемой крышки-капельницы стерильное вазелиновое масло в следующие лунки блока:

- 1А (Ф. ГЛЮ) - 3 капли;

- 1В (УРЕ), 1С (ЛИЗ), 1D (ОРН), 1Е (АРГ), 1F (H₂S), 1G (ИНД) - 2 капли.

7.7. Блок заклеивают защитной пленкой и помещают в термостат при температуре (37±1) °С на 3-5 ч и 18-24 ч.

7.8. Оставшиеся неиспользованные блоки с ММТ Грам(-) хранят в закрытых полиэтиленовых пакетах до окончания срока годности при температуре от 2 до 8 °С.

8. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ.

8.1. Учет результатов проводят визуально в соответствии с цветовым указателем (таблица 1) через 18-24 ч инкубации.*

8.2. Снимают с блока защитную пленку и помещают в дезинфицирующий раствор.

8.3. Добавляют реактивы в следующие лунки блока:

- 1G (ИНД) для выявления индолообразования - 1-2 капли реактива по Эрлиху;

- 1Н (ФЕН) для выявления фенилаланиндезаминазы - 1 каплю 10% раствора хлорида железа (III);

- 2Н (НИТ) для выявления нитратредуктазы - 1 каплю 1% раствора риванола, затем 1 каплю 1% раствора кислоты хлористоводородной;

8.4. Реакции учитывают немедленно после добавления реактивов.

8.5. Идентификацию проводят с помощью таблицы «Биохимическая характеристика грамотрицательных бактерий - возбудителей нозокомиальных инфекций», «Ключа для ориентировочной дифференциации грамотрицательных бактерий» и компьютерной программы «Ident» с учетом данных по характеру роста, микроскопии, источников изоляции и др. В случае сомнительного результата тестов анализ повторяют.

Таблица 1

Цветовой указатель ММТ Грам(-)

№№ лунок	Тесты	Сокращения	Цвет раствора в очищенной воде субстрата	Реакция	
				положительная	отрицательная
1	2	3	4	5	6
1 ряд					
1А	ферментация глюкозы	Ф. ГЛЮ	зеленый, сине-зеленый, синий	желтый, желто-бурый	синий, сине-зеленый, зеленый
1В	наличие уреазы	УРЕ	желтый	розовый, малиновый	желтый, оранжевый, бледно-розовый

1С	наличие лизиндекарбоксилазы	ЛИЗ	оранжевый, желтый	красный, малиновый	желтый, оранжевый
1D	наличие орнитиндекарбоксилазы	ОРН	оранжевый, желтый	красный, малиновый	желтый, оранжевый
1E	наличие аргининдегидролазы	АРГ	оранжевый, желтый	красный, малиновый	желтый, оранжевый
1F	образование сероводорода	H ₂ S	бесцветный	черный, темно-серый	бесцветный, светло-серый
1G	образование индола	ИНД	бесцветный	розовый, малиновый	бесцветный, желтый
1H	наличие фенилаланиндезаминазы	ФЕН	бесцветный	зеленый, темно-зеленый	бледно-желтый, бесцветный
2 ряд					
2A*	наличие β-галактозидазы	ГАЛ	бесцветный	желтый, бледно-желтый	бесцветный
2B	утилизация цитрата натрия	ЦИТ	оранжевый, желтый	красный, малиновый	желтый, оранжевый
2C	утилизация малоната	МАЛ	оранжевый, желтый	красный, малиновый	желтый, оранжевый
2D	окисление лактозы	ЛАК	синий, сине-зеленый, зеленый	желтый, желто-бурый	синий, сине-зеленый, зеленый
2E	окисление маннита	МАН	синий, сине-зеленый, зеленый	желтый, желто-бурый	синий, сине-зеленый, зеленый
2F	окисление арабинозы	АРА	синий, сине-зеленый, зеленый	желтый, желто-бурый	синий, сине-зеленый, зеленый
2G	окисление глюкозы	О.ГЛЮ	синий, сине-зеленый, зеленый	желтый, желто-бурый	синий, сине-зеленый, зеленый
2H	наличие нитратредуктазы	НИТ	бесцветный	темно-бордовый	бесцветный, желтый

- учет теста на β-галактозидазу проводят дважды: через 3-5 ч, не снимая пленку, и через 18-24 ч.

9. УСЛОВИЯ ТРАНСПОРТИРОВАНИЯ И ХРАНЕНИЯ НАБОРА.

9.1. Транспортирование набора должно производиться при температуре 2-8 °С всеми видами крытых транспортных средств в соответствии с правилами перевозок, действующими на данном виде транспорта. Допускается транспортирование набора при температуре до 25 °С не более 5 суток.

9.2. Набор должен храниться в упаковке предприятия-изготовителя при температуре от +2 до +8 °С в холодильных камерах или холодильниках, обеспечивающих регламентированный температурный режим с ежедневной регистрацией температуры. Допускается хранение при температуре до 25 °С, но не более 5 суток. Замораживание компонентов набора не допускается.

9.3. Срок годности набора - 1 год.

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

10. УНИЧТОЖЕНИЕ И УТИЛИЗАЦИЯ НАБОРА.

10.1. Набор реагентов с истекшим сроком годности подлежит уничтожению.

10.2. Жидкие компоненты (реагенты, реактивы) набора уничтожаются вскрытием внутренней упаковки (флаконов) с последующим разведением водой 1:100, сливом раствора в канализацию и вывозом остатка упаковок как производственный или бытовой мусор.

10.3. Технические приспособления, принадлежности, входящие в комплектацию набора, подлежат механическому разрушению с вывозом остатков как производственный или бытовой мусор, или сжиганию.

10.4. Персонал, осуществляющий уничтожение изделий, должен соблюдать правила безопасности проведения того или иного способа уничтожения.

11. ГАРАНТИИ ИЗГОТОВИТЕЛЯ.

11.1. Предприятие-изготовитель гарантирует соответствие набора требованиям проекта ТУ 9398-013-73678649-2016 при соблюдении условий транспортирования, хранения и применения.

11.2. По вопросам качества набора «ММТ Грам(-)» следует обращаться в ООО НПО «Иммунотэкс» по фактическому адресу: 355008, Россия, г. Ставрополь, ул. Гражданская, д. 9, офис 110, тел./факс (8652) 28-34-60, 28-12-46.

Директор

ООО НПО «Иммунотэкс» _____ Батурин М.В.

М.П.