Инструкция по применению изделия медицинского назначения

Арт. MID65 «Реагенты диагностические *in vitro* для микробиологических исследований 3. Тест для видовой идентификации грамотрицательных оксидазоположительных палочек»

РУ №ФСЗ 2011/10205



Производитель MICROGEN BIOPRODUCTS Limited, Великобритания

Продавец АО «ДИАКОН», Россия

**Назначение и описание**

Пластиковые стрипы с лунками, которые содержат лиофилизированные биохимические субстраты и индикаторы. Интерпретирует 12 биохимических реакций. **Используется исключительно как дополнительная панель к тест-системе MID-64 для определения грамотрицательных оксидазотрицательных палочек.**

**Состав набора:**

Тестовые стрипы с лунками- 24 шт. в индивидуальной упаковке из фольги.

**Дополнительные реагенты и материалы, не включенные в набор:**

Реагенты для Нитрат-теста (MID-61a и MID-61b)

**Субстраты**

-Желатин

-Малонат

-Инозит

-Сорбит

-Рамноза

 -Сахароза

-Лактоза

-Арабиноза

-Адонитол

-Раффиноза

-Салицин

-Аргинин

**Стрип Микроген GN-ID В (лунки 13-24 при ипользовании с Microgen GN-ID A)**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| 13 | Желатин | Протеолитические ферменты разжижают желатин , что дает в результате образование черных частиц, рассеянных по лунке | Черный | Бесцветный |
| 14 | Малонат | Когда малонат натрия является единственным источником углерода, происходит ингибирование превращения янтарной кислоты в фумаровую кислоту. Если изолят не способен использовать этот субстрат, это приводит к накоплению янтарной кислоты, и организм не растет. Положительная реакция является результатом утилизации малоната натрия, одновременно с этим сульфат аммония используется как источник азота. Это приводит к образованию гидроксида натрия, который повышает щелочность и дает в результате появление синего цвета | Синий | Желтый |
| 15 | Инозит | Сбраживание- бромтимоловый синий меняет цвет с синего на желтый в результате действия кислоты, образовавшейся при сбраживании углевода. | Желтый | Синий |
| 16 | Сорбит |
| 17 | Рамноза |
| 18 | Сахароза |
| 19 | Лактоза |
| 20 | Арабиноза |
| 21 | Адонитол |
| 22 | Раффиноза |
| 23 | Салицин |
| 24 | Аргинин | Аргинин превращается в орнитин, аммиак и СО2 под действием аргинин-дигидролазы, что дает в результате увеличение рН и изменение цвета бромтимолового синего с зеленого на синий. После 48 ч. зеленый цвет считается отрицательной реакцией. | Сине-зеленый  Синий | Желтый  Желто-зеленый |

**Вариант 1.Панели GN-ID А+ GN-ID В для оксидазоотрицательных палочек**

**Процедура теста**

1.После выделения чистой культуры, проведите тест на оксидазу. Если результат отрицательный, используйте данный протокол.

2. Отберите одну отдельную колонию с поверхности агара и растворите в 5 мл стерильного физиологического раствора (0,85% NaCl), тщательно перемешайте. Идеальная суспензия эквивалентна 0.5 по Мак-Фарланду, но точность необязательна.

3. Снимите адгезивную пленку со стрипов с лунками, но не удаляйте ее полностью.

4.Добавьте пастеровской пипеткой 3-4 капли (около 100 мкл) бактериальной суспензии в каждую лунку стрипов.

5. Дополнительно для проверки можно поместить 1 каплю бактериальной суспензии на неселективную среду и инкубировать параллельно 18-24 ч. при 35-37°С.

8.Добавьте в ячейки 1,2,3,9 панели А и в ячейки 20 и 24 панели В минеральное масло 3-4 капли (ячейки обведены черным контуром).

9.Наклейте адгезивную пленку обратно на стрипы и убедитесь в присутствии проколов над ячейками 7,11,12 панели А.

10.Инкубируйте 18-24 ч. при 35-37°С.

**Чтение результатов, добавление реагентов после инкубации.**

1.Удалите адгезивную пленку.

**Ячейки, в которые необходимо добавить реагенты, помечены зеленым контуром.**

2.В ячейку 8 добавьте 2 капли реактива Ковача на индол (MID-61f). Результат считывается через 60 сек. Появление красного цвета означает положительный результат.

3. В ячейку 10 добавьте 1 каплю реагента Фогеса-Проскауэра I (MID-61c) и 1 каплю реагента Фогеса-Проскауэра II (MID-61d). Результат считывается через 15-30 минут. Появление цвета от светло-розового до темно-красного означает положительный результат.

4. В ячейку 12 добавьте 1 каплю реагента TDA (MID-61e). Результат считывается через 1 минуту. Появление вишнево-красного цвета означает положительный результат.

5.Реакция в ячейке 13 на Желатин считывается через 24 ч.

6.Запишите все результаты в форму.

7. Составьте 8-значный код.



8.Введите полученный код в базу данных для определения вида микроорганизма.

**Определяемые виды (GN A + GN B панели, оксидазоотрицательные палочки)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ***Acinetobacter baumannii*** | ***Enterobacter amnigenus biogp 1*** | ***Pragia fontium*** | ***Trabulsiella guamensis*** |
| ***Acinetobacter lwoffii*** | ***Enterobacter amnigenus biogp 2*** | ***Pantoea dispersa*** | ***Xenorhabdus nematophilis (25°C)*** |
| ***Acinetobacter haemolyticus*** | ***Enterobacter asburiae*** | ***Pantoea agglomerans*** | ***Xanthomonas (Stenotrophomonas) maltophilia*** |
| ***Averyella dalhousiensis*** | ***Enterobacter hormaechei*** | ***Photorhabdus luminescens (25C)*** | ***Yersinia enterocolitica*** |
| ***Budvicia aquatica*** | ***Enterobacter cancerogenus*** | ***Photorhabdus asymbiotica*** | ***Yersinia frederiksenii*** |
| ***Buttiauxella agrestis*** | ***Enterobacter dissolvens*** | ***Proteus mirabilis*** | ***Yersinia intermedia*** |
| ***Buttiauxella brennerae*** | ***Enterobacter nimipressuralis*** | ***Proteus vulgaris*** | ***Yersinia kristensenii*** |
| ***Buttiauxella ferragutiae*** | ***Enterobacter pyrinus*** | ***Proteus penneri*** | ***Yersinia rohdei*** |
| ***Buttiauxella gaviniae*** | ***Escherichia coli*** | ***Proteus myxofaciens*** | ***Yersinia aldovae*** |
| ***Buttiauxella izardi*** | ***Escherichia coli - inactive*** | ***Providencia rettgeri*** | ***Yersinia bercovieri*** |
| ***Buttiauxalla noackiae*** | ***Escherichia fergusonii*** | ***Providencia stuartii*** | ***Yersinia mollaretii*** |
| ***Butiauxella wamboldiae*** | ***Escherichia hermannii*** | ***Providencia alcalifaciens*** | ***Yersinia pestis*** |
| ***Cedecea davisae*** | ***Escherichia vulneris*** | ***Providencia rustigianii*** | ***Yersinia pseudotuberculosis*** |
| ***Cedecea lapagei*** | ***Escherichia blattae*** | ***Providencia heimbachae*** | ***Yersinia ruckeri*** |
| ***Cedecea neteri*** | ***Shigella Serogroups A,B,C*** | ***Rahnella aquatilis*** | ***Yokenella regensburgei*** |
| ***Cedecea sp 3*** | ***Shigella sonnei (Group D)*** | ***Salmonella enterica Group I*** | ***Enteric Gp59*** |
| ***Cedecea sp 5*** | ***Ewingella americana*** | ***Salmonella serotype Typhi*** | ***Enteric Gp60*** |
| ***Citrobacter freundii*** | ***Hafnia alvei*** | ***Salmonella Cholerae-suis*** | ***Enteric Gp63*** |
| ***Citrobacter diversus/koseri*** | ***Hafnia alvei biogp 1*** | ***Salmonella Paratyphi A*** | ***Enteric Gp64*** |
| ***Citrobacter amalonaticus*** | ***Klebsiella pneumoniae*** | ***Salmonella gallinarum*** | ***Enteric Gp68*** |
| ***Citrobacter farmeri*** | ***Klebsiella oxytoca*** | ***Salmonella pullorum*** | ***Enteric Gp69*** |
| ***Citrobacter youngae*** | ***Klebsiella ornithinolytica*** | ***Salmonella Group II*** |  |
| ***Citrobacter braakii*** | ***Klebsiella ozaenae*** | ***Salmonella Group Illa*** |  |
| ***Citrobacter werkmanii*** | ***Klebsiella rhinoscleromatis*** | ***Salmonella Group Illb*** |  |
| ***Citrobacter sedlakii*** | ***Klebsiella terrigena*** | ***Salmonella Group IV*** |  |
| ***Citrobacter rodentium*** | ***Kluyvera ascorbata*** | ***Salmonella bongori (Group V)*** |  |
| ***Citrobacter gillenii*** | ***Kluyvera cryocrescens*** | ***Salmonella Group VI*** |  |
| ***Citrobacter Group 137*** | ***Kluyvera georgiana*** | ***Serratia marcescens*** |  |
| ***Edwardsiella tarda*** | ***Kluyvera intermedia*** | ***Serratia marcescens biogp 1*** |  |
| ***Edwardsiella tarda biogp 1*** | ***Leclercia adecarboxylata*** | ***Serratia liquefaciens*** |  |
| ***Edwardsiella hoshinae*** | ***Leminorella grimontii*** | ***Serratia rubidaea*** |  |
| ***Edwardsiella ictaluri*** | ***Leminorella richardii*** | ***Serratia odorifera biogp 1*** |  |
| ***Enterobacter aerogenes*** | ***Moellerella wisconsensis*** | ***Serratia odorifera biogp 2*** |  |
| ***Enterobacter cloacae*** | ***Morganella morganii*** | ***Serratia plymuthica*** |  |
| ***Enterobacter agglomerans*** | ***Morganella morganii ss morganii*** | ***Serratia ficaria*** |  |
| ***Enterobacter gergoviae*** | ***Morganella morganii biogp 1*** | ***Serratia entomophila*** |  |
| ***Enterobacter sakazakii*** | ***Morganella morganii ss Sibonii 1*** | ***Serratia fonticola*** |  |
| ***Enterobacter taylorae (cancerogenus)*** | ***Obesumbacterium proteus biogp 2*** | ***Tatumella ptyseos*** |  |

**Вариант 2.Панели GN-ID А + GN-ID В для оксидазоположительных палочек**

**Процедура теста**

1.После выделения чистой культуры, проведите тест на оксидазу. Если результат положительный, используйте данный протокол.

2. Отберите одну отдельную колонию с поверхности агара и растворите в 5 мл стерильного физиологического раствора (0,85% NaCl), тщательно перемешайте. Идеальная суспензия эквивалентна 0.5 по Мак-Фарланду, но точность необязательна.

3.Если подозревается Actinobacillus или Pasteurella spp., добавьте к суспензии 1 каплю/мл стерильной лошадиной сыворотки.

4. Снимите адгезивную пленку со стрипов с лунками, но не удаляйте ее полностью.

5.Добавьте пастеровской пипеткой 3-4 капли (около 100 мкл) бактериальной суспензии в каждую лунку стрипов.

5. Дополнительно для проверки можно поместить 1 каплю бактериальной суспензии на неселективную среду и инкубировать параллельно 18-24 ч. при 35-37°С.

8.Добавьте в ячейки 1,2,3,9 панели А и в ячейку 24 панели В минеральное масло 3-4 капли (ячейки обведены черным контуром).

9.Наклейте адгезивную пленку обратно на стрипы и убедитесь в присутствии проколов над ячейками 7,11,12 панели А.

10.Инкубируйте 48 ч. при 35-37°С. (если подозревается Ps.fluorescens, инкубируйте при 25°С).

**Чтение результатов, добавление реагентов после инкубации.**

1.Удалите адгезивную пленку.

**Ячейки, в которые необходимо добавить реагенты, помечены зеленым контуром.**

2. В ячейку 7 добавьте 1 каплю Нитрат-реагента А (MID-61а)и 1 каплю Нитрат-реагента В (MID-61b). Результат считывается через 1 минуту. Образование красного цвета означает положительный результат.

2.В ячейку 8 добавьте 2 капли реактива Ковача на индол (MID-61f). Результат считывается через 60 сек. Появление красного цвета означает положительный результат.

3. В ячейку 10 добавьте 1 каплю реагента Фогеса-Проскауэра I (MID-61c) и 1 каплю реагента Фогеса-Проскауэра II (MID-61d). Результат считывается через 15-30 минут. Появление цвета от светло-розового до темно-красного означает положительный результат.

4. В ячейку 12 добавьте 1 каплю реагента TDA (MID-61e). Результат считывается через 1 минуту. Появление вишнево-красного цвета означает положительный результат.

5.Реакция в ячейке 13 на Желатин считывается через 48 ч.

6.Запишите все результаты в форму.

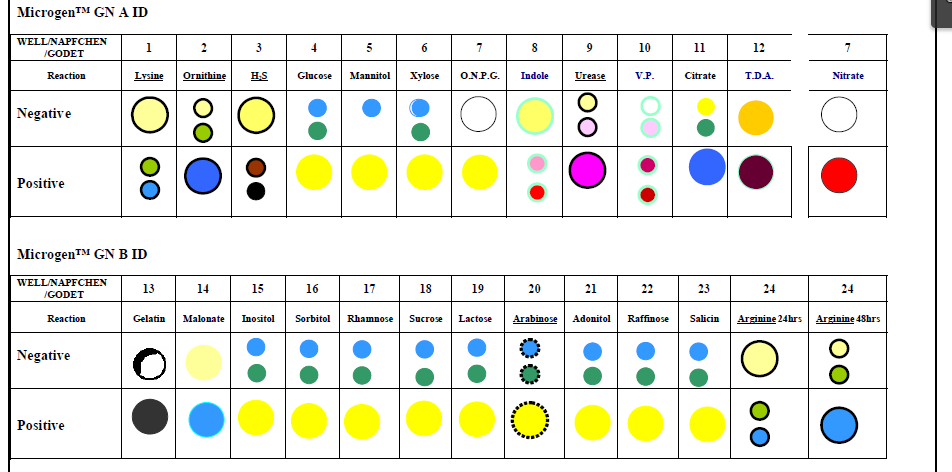
7. Составьте 9-значный код (сложив индексы положительных реакций в каждом из триплетов). **(Важно! код будет состоять из 9 знаков: включается тест на оксидазу, на нитраты и на подвижность, первый триплет реакций).**

8.Введите полученный код в базу данных для определения вида микроорганизма.

**Определяемые виды (GN A + GN B панели, оксидазоположительные палочки)**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| ***Pseudomonas aeruginosa*** | ***Alcaligenes xylosoxidans ss xylos*** | ***Vibrio parahaemolyticus*** | ***Weeksella virosa*** |
| ***Pseudomonas fluorescens 25°C*** | ***Flavobacterium meningosepticum*** | ***Vibrio alginolyticus*** | ***Weeksella zoohelcum*** |
| ***Pseudomonas fluorescens 37°C*** | ***Flavobacterium odoratum*** | ***Vibrio cincinnatiensis*** | ***Pasteurella multocida*** |
| ***Burkholderia cepacia*** | ***Flavobacterium breve*** | ***Vibrio damsela*** | ***Pasteurella haemolytica*** |
| ***Pseudomonas putida*** | ***Flavobacterium oindologenes*** | ***Vibrio carchariae*** | ***Actinobacillus spp.*** |
| ***Pseudomonas stutzeri*** | ***Vibrio fluvialis*** | ***Moraxella spp.*** |  |
| ***Pseudomonas diminuta*** | ***Vibrio furnissii*** | ***Plesiomonas shigelloides*** |  |
| ***Burkholderia pseudomallei*** | ***Vibrio mimicus*** | ***Aeromonas hydrophila*** |  |
| ***Shewanella putrefaciens*** | ***Vibrio vulnificus*** | ***Aeromonas veronii bio sobria*** |  |
| ***Alcaligenes faecalis type 11*** | ***Vibrio hollisae*** | ***Aeromonas veronii bio veronii*** |  |
| ***Alcaligenes faecalis*** | ***Vibrio cholerae*** | ***Aeromonas caviae*** |  |

**Таблица цветовых реакций**

****

УТИЛИЗАЦИЯ

После использования, все материалы, которые вступили в контакт с исследуемым образцом, должны быть обеззаражены и утилизированы в соответствии с действующими нормативными правилами в зависимости от класса медицинских отходов.

ВОПРОСЫ И ПРЕДЛОЖЕНИЯ

По всем вопросам, предложениям, замечаниям, связанным с использованием продукта, вы можете обращаться в АО «ДИАКОН», 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, д. 1а, e-mail: [sale@diakonlab.ru](mailto:sale@diakonlab.ru), +7 (495) 980-63-39.