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-зеленыйСиний | ЖелтыйЖелто-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, +7 (495) 980-63-39.