

СПРАВКА

об изделии медицинского назначения

на набор реагентов

тест-система биохимическая для дифференциации микроорганизмов
рода коринебактерий, в том числе возбудителя дифтерии, и определения его

токсигенных свойств

«ДС-ДИФ-КОРИНЕ»

1. Описание изделия.

«ДС-ДИФ-КОРИНЕ» Тест-система биохимическая для дифференциации микроорганизмов рода коринебактерий, в том числе возбудителя дифтерии, и определения его токсигенных свойств, предназначен для определения ферментативной активности микроорганизмов рода *Corynebacterium* и идентификации их до вида, а также определения токсигенных свойств коринебактерий дифтерии в реакции иммунопреципитации.

Набор выпускается в двух комплектациях:

Набор №1 рассчитан на проведение 12 (один разборный планшет) анализов по 9 биохимическим признакам и пробе на токсигенность, включая постановку одного контрольного штамма, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора.

Набор №2 рассчитан на проведение 40 определений токсигенности *Corynebacterium diphtheriae* в реакции иммунопреципитации, включая контрольный штамм.

В состав набора входят следующие реагенты:

- стрипы с дифференцирующими субстратами;
- среда для определения цистиназы;
- реактив Грисса раствор 10%;
- масло вазелиновое стерильное;
- вода пептонная 0,5 %, стерильная;
- диски с антитоксином дифтерийным.

Каждый реагент помещен в индивидуальную упаковку:

стрипы с дифференцирующими субстратами - в пакеты из плёнки многослойной соэкструзионной или в пакеты из материала комбинированного пленочного;

среда для определения цистиназы, диски с антитоксином дифтерийным - во флаконы из светлого стекла.

реактив Грисса раствор 10% - во флаконы из тёмного пластика или во флаконы из темного стекла.

масло вазелиновое стерильное - во флаконы из светлого или темного стекла.

вода пептонная 0,5 %, стерильная - во флаконы из светлого пластика.

Состав набора реагентов:

Характеристики реагентов	Форма выпуска	
	Набор №1	Набор №2
Стрипы с дифференцирующими субстратами	3 пакета (по 4 стрипа) 12 шт.	
Среда для определения цистиназы	12 флаконов	

	по 1,5 мл	
Реактив Грисса раствор 10%	1 флакон 3,0 мл	
Масло вазелиновое стерильное	1 флакон 3,0 мл	
Вода пептонная 0,5 %, стерильная	1 флакон 40,0 мл	
Диски с антитоксином дифтерийным	1 флакон 20 шт.	2 флакона по 20 шт.

Набор упакован в коробку картонную, куда вкладывается инструкция по применению.

Дополнительно набор укомплектован	Крышка для планшета или защитная пленка	1 шт.	
	Рамка для стрипов	1 шт.	
	Пакет полиэтиленовый	1 шт.	
	Таблица биохимических свойств коринебактерий	1 шт.	
	Диагностический «ключ»	1 шт.	
	Бланк учета результатов	1 шт.	
	Каталог кодов	1 шт.	
	Кодовая карточка	12 шт.	

2. Описание принципа действия изделия.

«ДС-ДИФ-КОРИНЕ» биохимический набор, основанный на определении ферментативной активности микроорганизмов рода *Corynebacterium* (утилизация глюкозы, сахарозы, крахмала, мальтозы, фруктозы, галактозы, наличие нитратредуктазы, уреазы, цистиназы) и определении токсигенных свойств коринебактерий дифтерии в реакции иммунопреципитации в плотном агаровом геле.

Суточная агаровая культура исследуемых штаммов коринебактерий используется для постановки пробы на токсигенность, для определения цистиназы в пробе Пизу и для приготовления микробной суспензии штаммов в 3,0 мл стерильной 0,5 % пептонной воды pH от 7,4 до 7,6. Мутность суспензии доводится до 10 единиц по отраслевому стандартному образцу мутности бактериальных взвесей или третьей степени по шкале McFarland.

Определение токсигенности коринебактерий дифтерии проводится на чашке с токсагаром. На поверхность агара помещается бумажный диск с антитоксином дифтерийным, вокруг диска «бляшками» наносится агаровая культура исследуемого штамма. Инкубация происходит в термостате при температуре 37 °C в течение 48 часов. Антиоксин из диска диффундирует в агаровый гель и при наличии токсина у испытуемого штамма образуется комплекс, который визуально определяется по образованию белых линий иммунопреципитации.

Определение цистиназы проводится при внесении агаровой культуры исследуемого штамма в глубину полужидкой среды для определения цистиназы. Инкубация происходит в термостате при температуре 37 °C в течение 24 часов. При наличии фермента цистиназы образуется черный след по ходу укола и темно - коричневое облако вокруг него в виде воронки или диффузное.

Определение прочей ферментативной активности коринебактерий проводится при внесении по 0,15 мл микробной суспензии в лунки стрипа с дифференцирующими субстратами. Инкубация происходит в термостате при температуре 37 °C в течение 24 часов. Ферменты микроорганизма производят утилизацию соответствующих питательных субстратов. После внесения дополнительного реагента в тест на определение

нитратредуктазы проводится визуальный учет результатов по изменению цвета растворов в лунках.

3. Функциональные характеристики изделия.

Действующим началом тест-системы являются:

- стрипы с дифференцирующими субстратами – стрипы с сухими субстратно-индикаторными средами, содержащими глюкозу, сахарозу, крахмал, мальтозу, фруктозу, галактозу, калия нитрат и мочевины;

- среда для определения цистионазы - желеобразная масса, содержащая цистин;

- диски с антитоксином дифтерийным – бумажные диски, пропитанные антитоксином диагностическим дифтерийным.

Общая продолжительность времени анализа – 24 часа с использованием термостата при $37 \pm 1^\circ\text{C}$, 48 часов – для определения токсигенности.

Мутность суспензии - 10 единиц по ОСО 42-28-85-06 II или третьей степени по шкале McFarland.

Количество вносимого инокулята – 150 мкл.

Учет результатов проводится визуально. Идентификация культур коринебактерий проводится с использованием таблицы биохимических свойств, диагностического «ключа», каталога кодов.

Количество проб: набор №1 - 12 определений, включая контрольный штамм; набор №2 - 40 определений, включая контрольные постановки.

Срок годности – 12 мес.

4. Сферы применения изделия:

Абсолютным патогеном для человека является *C. diphtherie* – возбудитель дифтерии, острого инфекционного заболевания дыхательных путей с выраженной интоксикацией всего организма; некоторые виды – естественные патогены скота или грызунов; некоторые входят в состав нормальной флоры кожи и слизистых человека. В последние десятилетия клиническая роль считавшихся непатогенными для людей коринебактерий возросла – их все чаще выделяют как возбудителей воспалительных гнойно-септических и респираторных заболеваний от лиц с вторичными иммунодефицитами, подвергавшихся иммунодепрессивной терапии после тяжелых операций, наркоманов, онкологических и гематологических больных, ВИЧ – инфицированных, престарелых. Устойчивость некоторых видов (*C. jeikeium*, *C. cystitidis*, *C. amycolatum*) к общеприменяющимся антибиотикам (пенициллинам, аминогликозидам, хинолонам) способствует их распространению как агентов госпитальной инфекции.

Предложенные тесты позволяют идентифицировать 20 видов коринебактерий, включенных в Определитель бактерий Берги (1997 г.), в т. ч. биовары *gravis* и *mitis*, и вариант *belfanti* возбудителя дифтерии.

Область применения – клиническая медицина, лабораторная диагностика.

Генеральный директор
ООО «Научно-производственное
объединение «Диагностические системы»

И. Е. Колосов
2010 г.

Исполнено и
мануально
3 (три) *Александр*



те
рода к

1. С
«
микроор
определ
активно
определ
иммуно

И
И
биохим
контрол
(по одн
I
diphthe

созкстр

флакон

темног

Стрип

Среда

СПРАВКА
об изделии медицинского назначения
на набор реагентов
тест-система биохимическая для дифференциации микроорганизмов
рода коринебактерий, в том числе возбудителя дифтерии, и определения его
токсигенных свойств
«ДС-ДИФ-КОРИНЕ»

1. Описание изделия.

«ДС-ДИФ-КОРИНЕ» Тест-система биохимическая для дифференциации микроорганизмов рода коринебактерий, в том числе возбудителя дифтерии, и определения его токсигенных свойств, предназначен для определения ферментативной активности микроорганизмов рода *Corynebacterium* и идентификации их до вида, а также определения токсигенных свойств коринебактерий дифтерии в реакции иммунопреципитации.

Набор выпускается в двух комплектациях:

Набор №1 рассчитан на проведение 12 (один разборный планшет) анализов по 9 биохимическим признакам и пробе на токсигенность, включая постановку одного контрольного штамма, предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора.

Набор №2 рассчитан на проведение 40 определений токсигенности *Corynebacterium diphtheriae* в реакции иммунопреципитации, включая контрольный штамм.

В состав набора входят следующие реагенты:

- стрипы с дифференцирующими субстратами;
- среда для определения цистиназы;
- реактив Грисса раствор 10%;
- масло вазелиновое стерильное;
- вода пептонная 0,5 %, стерильная;
- диски с антитоксином дифтерийным.

Каждый реагент помещен в индивидуальную упаковку:

стрипы с дифференцирующими субстратами - в пакеты из плёнки многослойной соэкструзионной или в пакеты из материала комбинированного пленочного;

среда для определения цистиназы, диски с антитоксином дифтерийным – во флаконы из светлого стекла.

реактив Грисса раствор 10% - во флаконы из тёмного пластика или во флаконы из темного стекла.

масло вазелиновое стерильное - во флаконы из светлого или темного стекла.

вода пептонная 0,5 %, стерильная - во флаконы из светлого пластика.

Состав набора реагентов:

Характеристики реагентов	Форма выпуска	
	Набор №1	Набор №2
Стрипы с дифференцирующими субстратами	3 пакета (по 4 стрипа) 12 шт.	
Среда для определения цистиназы	12 флаконов	

	по 1,5 мл	
Реактив Грисса раствор 10%	1 флакон 3,0 мл	
Масло вазелиновое стерильное	1 флакон 3,0 мл	
Вода пептонная 0,5 %, стерильная	1 флакон 40,0 мл	
Диски с антитоксином дифтерийным	1 флакон 20 шт.	2 флакона по 20 шт.

Набор упакован в коробку картонную, куда вкладывается инструкция по применению.

Дополнительно набор укомплектован	Крышка для планшета или защитная пленка	1 шт.	
	Рамка для стрипов	1 шт.	
	Пакет полиэтиленовый	1 шт.	
	Таблица биохимических свойств коринебактерий	1 шт.	
	Диагностический «ключ»	1 шт.	
	Бланк учета результатов	1 шт.	
	Каталог кодов	1 шт.	
	Кодовая карточка	12 шт.	

2. Описание принципа действия изделия.

«ДС-ДИФ-КОРИНЕ» биохимический набор, основанный на определении ферментативной активности микроорганизмов рода *Corynebacterium* (утилизация глюкозы, сахарозы, крахмала, мальтозы, фруктозы, галактозы, наличие нитратредуктазы, уреазы, цистиназы) и определении токсигенных свойств коринебактерий дифтерии в реакции иммунопреципитации в плотном агаровом геле.

Суточная агаровая культура исследуемых штаммов коринебактерий используется для постановки пробы на токсигенность, для определения цистиназы в пробе Пизу и для приготовления микробной суспензии штаммов в 3,0 мл стерильной 0,5 % пептонной воды рН от 7,4 до 7,6. Мутность суспензии доводится до 10 единиц по отраслевому стандартному образцу мутности бактериальных взвесей или третьей степени по шкале McFarland.

Определение токсигенности коринебактерий дифтерии проводится на чашке с токсагаром. На поверхность агара помещается бумажный диск с антитоксином дифтерийным, вокруг диска «бляшками» наносится агаровая культура исследуемого штамма. Инкубация происходит в термостате при температуре 37 °С в течение 48 часов. Антитоксин из диска диффундирует в агаровый гель и при наличии токсина у испытуемого штамма образуется комплекс, который визуально определяется по образованию белых линий иммунопреципитации.

Определение цистиназы проводится при внесении агаровой культуры исследуемого штамма в глубину полужидкой среды для определения цистиназы. Инкубация происходит в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов. При наличии фермента цистиназы образуется черный след по ходу укола и темно - коричневое облако вокруг него в виде воронки или диффузное.

Определение прочей ферментативной активности коринебактерий проводится при внесении по 0,15 мл микробной суспензии в лунки стрипа с дифференцирующими субстратами. Инкубация происходит в термостате при температуре 37 °С в течение 24 часов. Ферменты микроорганизма производят утилизацию соответствующих питательных субстратов. После внесения дополнительного реагента в тест на определение

нитратредуктазы проводится визуальный учет результатов по изменению цвета растворов в лунках.

3. Функциональные характеристики изделия.

Действующим началом тест-системы являются:

- стрипы с дифференцирующими субстратами – стрипы с сухими субстратно-индикаторными средами, содержащими глюкозу, сахарозу, крахмал, мальтозу, фруктозу, галактозу, калия нитрат и мочевины;

- среда для определения цистиназы - желеобразная масса, содержащая цистин;

- диски с антитоксином дифтерийным – бумажные диски, пропитанные антитоксином диагностическим дифтерийным.

Общая продолжительность времени анализа – 24 часа с использованием термостата при $37 \pm 1^\circ\text{C}$, 48 часов – для определения токсигенности.

Мутность суспензии - 10 единиц по ОСО 42-28-85-06 II или третьей степени по шкале McFarland.

Количество вносимого инокулята – 150 мкл.

Учет результатов проводится визуально. Идентификация культур коринебактерий проводится с использованием таблицы биохимических свойств, диагностического «ключа», каталога кодов.

Количество проб: набор №1 - 12 определений, включая контрольный штамм; набор №2 - 40 определений, включая контрольные постановки.

Срок годности – 12 мес.

4. Сферы применения изделия:

Абсолютным патогеном для человека является *C. diphtherie* – возбудитель дифтерии, острого инфекционного заболевания дыхательных путей с выраженной интоксикацией всего организма; некоторые виды – естественные патогены скота или грызунов; некоторые входят в состав нормальной флоры кожи и слизистых человека. В последние десятилетия клиническая роль считавшихся непатогенными для людей коринебактерий возросла – их все чаще выделяют как возбудителей воспалительных гнойно-септических и респираторных заболеваний от лиц с вторичными иммунодефицитами, подвергавшихся иммунодепрессивной терапии после тяжелых операций, наркоманов, онкологических и гематологических больных, ВИЧ – инфицированных, престарелых. Устойчивость некоторых видов (*C. jeikeium*, *C. cystitidis*, *C. amycolatum*) к общеприменяющимся антибиотикам (пенициллинам, аминогликозидам, хинолонам) способствует их распространению как агентов госпитальной инфекции.

Предложенные тесты позволяют идентифицировать 20 видов коринебактерий, включенных в Определитель бактерий Берги (1997 г.), в т. ч. биовары *gravis* и *mitis*, и вариант *belfanti* возбудителя дифтерии.

Область применения – клиническая медицина, лабораторная диагностика.

Генеральный директор
ООО «Научно-производственное
объединение «Диагностические системы»



[Handwritten signature]
«25» 12

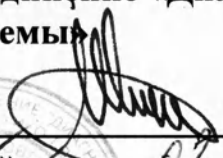
И. Е. Колосов
2010 г.

13

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

**ООО «Научно-производственное
объединение «Диагностические
системы»**


И. Е. Колосов

2010 г.



ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

«ДС-ДИФ-КОРИНЕ»

**Тест-система биохимическая для дифференциации микроорганизмов
рода коринебактерий, в том числе возбудителя дифтерии, и определения
его токсигенных свойств**

Набор №1

Разработана впервые

Содержание

I. Назначение.....	3
II. Принцип теста.....	3
III. Состав набора «ДС-ДИФ-КОРИНЕ».....	3
IV. Необходимые материалы и оборудование, не предоставляемые с набором реагентов...	4
V. Меры предосторожности.....	5
VI. Инструкции по безопасности.....	5
VII. Отбор и подготовка образцов.....	5
VIII. Проведение анализа.....	6
1. Определение токсигенных свойств коринебактерий дифтерии.	
2. Определение биохимической активности.	6
IX. Учет результатов.....	6
X. Срок годности. Условия хранения и транспортировки.....	8
XI. Объяснение символов.....	8

Набор реагентов «ДС-ДИФ-КОРИНЕ» набор № 1 рассчитан на проведение 12 определений (стрипы одного разборного планшета и 12 флаконов со средой для определения цистиназы), позволяющих дифференцировать микроорганизмы рода *Corynebacterium* до вида, включая один контрольный штамм; предназначен для ручной постановки с возможностью дробного (по одному стрипу) использования набора. Количество бумажных дисков, пропитанных антитоксином диагностическим дифтерийным, рассчитано на проведение 20 определений токсигенности *Corynebacterium diphtheriae* в реакции иммунопреципитации, включая контрольный штамм.

I. НАЗНАЧЕНИЕ.

Тест-система «ДС-ДИФ-КОРИНЕ» Набор №1 позволяет определять ферментативную активность микроорганизмов рода *Corynebacterium* и идентифицировать их до вида, а также определять токсигенные свойства коринебактерий дифтерии.

II. ПРИНЦИП ТЕСТА.

Принцип теста основан на определении ферментативной активности микроорганизмов рода *Corynebacterium* (утилизация глюкозы, сахарозы, крахмала, мальтозы, фруктозы, галактозы, наличие нитратредуктазы, уреазы, цистиназы) и определении токсигенных свойств коринебактерий дифтерии в реакции иммунопреципитации в плотном агаровом геле.

III. СОСТАВ НАБОРА №1 «ДС-ДИФ-КОРИНЕ».

Реагент	Форма выпуска
Стрипы разборного 96-луночного полистиролового планшета, в лунках которого сорбированы 8 сухих субстратно-индикаторных сред: D-глюкоза, сахароза, крахмал, D-мальтоза, фруктоза, D-галактоза, нитрат калия, мочевины (тесты расположены в вертикальном направлении). Цвет субстратно-индикаторной среды в лунке зависит от применяемого индикатора и pH субстрата (таблица 2).	3 пакета - 12 шт.
Среда для определения цистиназы. Желеобразная масса светло-желтого цвета, слегка опалесцирующая, допустимо выпадение белого осадка и образование небольшого количества конденсата	12 фл. по 1,5 мл
Диски с антитоксином дифтерийным – бумажные диски диаметром 0,6 см, пропитанные антитоксином диагностическим дифтерийным. Бумажные диски белого или светло-желтого цвета.	1 фл. 20 дисков
Реактив Грисса раствор 10 %. Прозрачная или слегка опалесцирующая жидкость, бесцветная или светло-серого цвета, возможно выпадение осадка.	1 фл. - 3,0 мл
Вода пептонная 0,5%, стерильная, pH от 7,4 до 7,6. Прозрачная светло-желтого цвета жидкость, допустимо выпадение осадка	1 фл. - 40,0 мл
Масло вазелиновое стерильное. Прозрачная вязкая жидкость с желтоватым оттенком.	1 фл. - 3,0 мл

Реагенты помещают в коробку картонную или пакет полиэтиленовый, куда вкладывают инструкцию по применению.

Дополнительно в состав набора № 1 входят:

Крышка для планшета или защитная пленка	1 шт.
Рамка для стрипов	1 шт.

Пакет полиэтиленовый	1 шт.
Таблица биохимических свойств коринебактерий	1 шт.
Диагностический «ключ»	1 шт.
Бланк учета результатов	1 шт.
Каталог кодов	1 шт.
Кодовая карточка	12 шт.

IV. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ.

- термостат;
- микробиологические петли $d = 2$ мм, пинцет;
- спиртовка или газовая горелка;
- чашки Петри с агаром для определения токсигенности коринебактерий;
- пробирки стеклянные стерильные;
- пипетки стеклянные калиброванные на 1 мл и 5 мл или дозаторы пипеточные переменного объема одноканальные (с погрешностью измерения не более, указанной в паспорте на данный прибор) со стерильными наконечниками;
- слабощелочной питательный агар: коринебакагар (ФГУН ГНЦПМ), или мясопептонный агар (ФСП 42-0084-64-90-05), или Хоттингера агар (ТУ 10-02-02-789-176-94);
- лошадиная сыворотка или сыворотка крови крупного рогатого скота (ФСП 42-3410-97) или гемолизированная кровь;
- отраслевой стандартный образец мутности (ОСО мутности) (ОСО 42-28-85-06 П) – на 10 единиц или третьей степени по шкале McFarland;
- токсигенный штамм *Corynebacterium diphtheriae* (можно приобрести в ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора РФ);
- при необходимости проверки качества набора следует использовать контрольные штаммы из коллекции ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора РФ (Таблица 1).

Таблица 1

Характеристика контрольных штаммов

№	Тесты	<i>C.diphtheriae</i> var. <i>gravis</i> токсигенный № 75	<i>C.diphtheriae</i> var. <i>mitis</i> токсигенный «Сеньков»	<i>C.ulcerans</i> № 675	<i>C.pseudo-</i> <i>diphtheriticum</i> (<i>hofmanii</i>) № 25	<i>C.xerosis</i> № 72a
1	Утилизация глюкозы	+	+	+	-	+
2	Утилизация сахарозы	-	-	-	-	+
3	Утилизация крахмала	+	-	+	-	-
4	Утилизация мальтозы	+	+	+	-	-
5	Утилизация фруктозы	+	+	+	-	+
6	Утилизация галактозы	+	+	+	-	+
7	Редукция нитратов	+	+	-	+	+
8	Наличие уреазы	-	-	+	+	-
9	Наличие цистиназы (Проба Пизу)	+	+	+	-	-
10	Наличие токсигенных свойств	+	+	-	-	-

«+ *» - у штамма *C.ulcerans* № 675 возможна замедленная утилизация крахмала до 48 часов.

V. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

- Набор не содержит в своем составе каких-либо опасных биологических агентов; компоненты, составляющие набор не представляют химической и иной опасности.
- Работы, связанные с определением микроорганизмов рода *Corynebacterium*, проводить с соблюдением требований санитарно-эпидемиологического режима, в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами 3-4 групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Культуры бактерий, стрипы, флаконы и использованные чашки Петри с пробой на токсигенность обезвреживать автоклавированием в паровом стерилизаторе в течение 1 часа при температуре $(126 \pm 2)^\circ\text{C}$ под давлением $1,5 \text{ кгс/см}^2$ ($0,15 \text{ Мпа}$) или замачивать на 24 часа в 3 % раствор хлорамина Б или 3 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего средства (СМС). Допустимо применение другого разрешенного к использованию дез. средства. Рамку и крышку для планшета 2 раза протереть 70 % этиловым спиртом. После обезвреживания рамку планшета и крышку можно использовать повторно. Микродозаторы до и после работы необходимо протирать 2 раза 70 % этиловым спиртом.

VI. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ.

- Все реагенты набора предназначены для диагностики *in vitro*.
- При работе с реагентами набора и исследуемыми образцами необходимо использовать лабораторную одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.
- Соблюдать меры предосторожности при работе со спиртовкой или газовой горелкой.
- Необходимо избегать распыливания образцов или растворов, содержащих образцы.
- При распыливании образцов или растворов, содержащих образцы необходимо протереть поверхность раствором гипохлорита натрия, разведенным до 10%. Используемый материал должен быть сброшен в контейнер для загрязненных отходов.

VII. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ.

Исследование проводить с чистой культурой, после определения принадлежности к роду *Corynebacterium* (рассев на пластинчатые среды, микроскопия мазка, окрашенного по Леффлеру).

Для работы использовать культуры, выращенные от 18 до 24 ч при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ на поверхности коринебакагара или слабощелочного питательного агара, содержащего 10% лошадиной сыворотки или сыворотки крупного рогатого скота или 5% гемолизированной крови.

Стерильной пипеткой отмерить по 3,0 мл 0,5 % пептонной воды рН от 7,4 до 7,6 в стерильные пробирки (по количеству исследуемых культур), пробирки с пептонной водой подогреть до температуры $(35 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Суточную агаровую культуру исследуемых штаммов использовать для постановки пробы на токсигенность, для определения цистиназы в пробе Пизу и для приготовления микробной суспензии штаммов в стерильной 0,5 % пептонной воде рН от 7,4 до 7,6. Мутность суспензии довести до 10 единиц по отраслевому стандартному образцу мутности бактериальных взвесей или третьей степени по шкале McFarland. При отсутствии стандарта можно приготовить суспензию внесением 2-3 петлей исследуемой агаровой культуры микроорганизма в 3,0 мл 0,5% пептонной воды. До начала исследования микробную взвесь хранить не более 30 мин.

VIII. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

1. Определение токсигенных свойств коринебактерий дифтерии.

1.1. Чашку Петри со средой для определения токсигенности дифтерийных микробов подсушить при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ от 15 до 20 мин, повернув вверх дном чашку и крышку.

1.2. По истечении указанного времени на поверхность агара стерильным пинцетом поместить индикаторные бумажные диски с дифтерийным антитоксином. Вокруг каждого диска с антитоксином сформировать бактериологической петлей диаметром 2 мм 5 «бляшек» из суточной агаровой культуры: чередуя 2 «бляшки» контрольного токсигенного штамма и 3 «бляшки» испытуемые (из одного анализа с подозрительными колониями сформировать минимум 2 «бляшки» из изолированных колоний и 1 «бляшку» из смеси от 3 до 6 однотипных колоний; материалом из этого же анализа можно занять места вокруг другого диска с антитоксином). Все 5 «бляшек» следует расположить симметрично вокруг диска на расстоянии 0,6 или 0,7 см от его края. Диаметр каждой «бляшки» - 0,7 см. На одной чашке Петри можно разместить до 4-х дисков с антитоксином и, соответственно, до 20 «бляшек» с культурами.

1.3. Чашки с посевами (вверх дном) поместить в термостат и инкубировать от 24 до 48 ч при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

2. Определение биохимической активности.

2.1. Определение цистиназы в пробе Пизу:

2.1.1. Для определения цистиназы в пробе Пизу необходимо использовать 1 флакон на каждый исследуемый штамм.

2.1.2. Флакон со средой для определения цистиназы прогреть в термостате в течение 30 мин при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$, поставив его в чистую чашку Петри. Удалить этикетку с флакона.

2.1.3. На флаконе необходимо зарегистрировать номер засеваемого штамма.

2.1.4. Флакон вскрыть и засеять суточную агаровую культуру штамма петлей ($d = 2$ мм) «уколом» до дна флакона.

2.1.5. Флакон закрыть резиновой пробкой и выдержать от 16 до 24 ч при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

2.2. Определение утилизации углеводов, редукции нитратов и наличия уреазы:

2.2.1. На прилагаемом к набору бланке учета результатов зарегистрировать номера испытуемых культур.

2.2.2. Вынуть из пакета необходимое количество стрипов (1 стрип – 1 анализ) и поместить в рамку. Для удобства в работе и исключения ошибок при внесении микробной суспензии стрипы можно плотно не сдвигать.

2.2.3. Внести стерильной пипеткой по 0,15 мл микробной суспензии в лунки А, В, С, D, E, F, G и H одного вертикального ряда (стрипа), для создания анаэробных условий добавить стерильной пипеткой 0,05 мл стерильного вазелинового масла в лунку H (тест на обнаружение уреазы). Возможно применение автоматического пипеточного дозатора с использованием стерильных наконечников с защитными фильтрами.

2.2.4. Рамку со стрипами накрыть крышкой и поместить в полиэтиленовый пакет, завернув край пакета вниз.

2.2.5. Планшет инкубировать при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ от 16 до 24 ч.

2.2.6. По окончании времени инкубации провести учет результатов.

IX. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ.

1. Учет результатов по токсигенности следует проводить через 18-24 ч и окончательно через 48 ч инкубации при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

1.1. Испытуемые культуры считаются токсигенными, если образуемые ими линии преципитации сливаются под углом с линиями преципитации контрольного токсигенного штамма.

Отсутствие линий преципитации у испытуемых культур через 48 ч при наличии их у контрольного токсигенного штамма указывает на отсутствие токсигенности у изучаемых культур.

2. Учет результатов биохимической активности.

2.1. Учет следует проводить визуально в соответствии с цветовым указателем (Таблица 2) через (20 ± 4) ч инкубации планшета и флаконов со средой для определения цистиназы при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$, за исключением теста на обнаружение уреазы. Учет теста на уреазу проводить через 2 ч и окончательно через (20 ± 4) ч инкубации.

2.2. Через (20 ± 4) ч инкубации вынуть планшет из пакета, снять крышку и в лунку G для выявления нитратредуктазы добавить пипеткой от 0,05 мл до 0,1 мл реактива Грисса. Результат учитывать немедленно по критериям цветового указателя (Таблица 2).

При отрицательном или сомнительном результате утилизации крахмала планшет вновь накрыть крышкой, поместить в пакет, завернув край пакета вниз и продолжить инкубацию до 48 ч при температуре $(37,0 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

2.3. Наличие цистиназы определяют по почернению среды по ходу «укола» и образованию вокруг него темно-коричневого «облачка».

Полученные результаты сравнивают с данными таблицы 2.

Таблица 2

Цветовой указатель

Лунки	Название теста	Цвет растворенного субстрата	Критерии оценки	
			Положительный результат	Отрицательный результат
			Смена окраски субстрата на:	
1	2	3	4	
A	Утилизация глюкозы	красный	желтый	красный
B	Утилизация сахарозы	красный	желтый	красный
C	Утилизация крахмала	красный	желтый, оранжевый	красный
D	Утилизация мальтозы	красный	желтый, оранжевый	красный
E	Утилизация фруктозы	красный	желтый	красный
F	Утилизация галактозы	красный	желтый, оранжевый	красный
G	Редукция нитратов	бесцветный	ярко-розовый, коричневый	бесцветный, светло-розовый
H	Наличие уреазы	желтый	малиновый, сиреневый	желтый, оранжевый

Определение цистиназы (Проба Пизу)	Желеобразная масса светло-желтого цвета с небольшим белым осадком на дне. Допустимо образование небольшого количества конденсата.	Черный след по ходу укола и темно - коричневое облако вокруг него в виде воронки или диффузное	Светлый след от укола с отдельными темными точками без облака
------------------------------------	---	--	---

Идентификацию культур коринебактерий проводить с использованием таблицы биохимических свойств, диагностического «ключа», каталога кодов (прилагаются).

Возможна автоматизированная процедура идентификации микроорганизмов рода коринебактерий с использованием «Программного обеспечения для автоматизированной идентификации бактерий» производства ООО «НПО «Диагностические Системы», которое позволяет идентифицировать коринебактерии, как методом кодов (при типичном поведении штаммов), так и методом расстояний на основе кластерного анализа (при атипичном поведении штаммов). Программа не входит в состав данного набора и может быть заказана отдельно.

Х. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ.

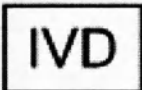
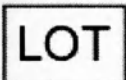
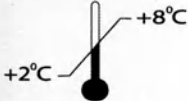
Срок годности – 12 месяцев. По истечении срока годности препарат использованию не подлежит.

Транспортирование в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 °С. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 °С не более 3 сут. Замораживание не допускается.

Хранение в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 в сухом, защищённом от света месте при температуре от 2 до 8 °С в течение всего срока годности, вату из флакона с дисками не удалять.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу 119002, Россия, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел.: (499) 241-39-22, факс: (499) 241-92-38 и в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно производственное объединение «Диагностические системы» Россия, 603093, Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.nnov.ru, www.npods.ru.

ХI. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ.

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования
	Код партии (номер серии)
	Производитель
	Температурные пределы хранения
	Срок годности дата/месяц/год
	Используйте инструкцию по применению
	Содержит раздражающее вещество

Директор по производству

ООО «Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»

В. К. Пименов

Исполнитель
установил
8 (восемь)
часов
Алексей



С

ИД

ЛОТ

Л

Л

Л

Л

Л

Л

Л

Handwritten signature or initials.

21

УТВЕРЖДАЮ

Генеральный директор

**ООО «Научно-производственное
объединение «Диагностические
системы»**



И. Е. Колосов

2010 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов

«ДС-ДИФ-КОРИНЕ»

**Диски с антитоксином дифтерийным
«ДС-ДИФ-КОРИНЕ (токсигенность)»**

Набор №2

Разработана впервые

Содержание

I. Назначение.....	3
II. Состав набора «ДС-ДИФ-КОРИНЕ (токсигенность)».....	3
III. Необходимые материалы и оборудование, не предоставляемые с набором реагентов..	3
IV. Меры предосторожности.....	3
V. Инструкции по безопасности.....	3
VI. Отбор и подготовка образцов.....	4
VII. Проведение анализа.....	4
VIII. Учет результатов.....	4
IX. Срок годности. Условия хранения и транспортировки.....	4
X.Объяснение символов.....	5

Набор реагентов № 2 «ДС-ДИФ-КОРИНЕ (токсигенность)» представляет собой 2 флакона, содержащие по 20 бумажных дисков, пропитанных антитоксином диагностическим дифтерийным, рассчитан на проведение 40 определений токсигенности *Corynebacterium diphtheriae* в реакции иммунопреципитации, включая контрольный штамм.

I. НАЗНАЧЕНИЕ.

Набор реагентов № 2 «ДС-ДИФ-КОРИНЕ» Диски с антитоксином дифтерийным «ДС-ДИФ-КОРИНЕ (токсигенность)» предназначен для определения токсигенных свойств *Corynebacterium diphtheriae* в реакции иммунопреципитации.

II. СОСТАВ НАБОРА № 2 «ДС-ДИФ-КОРИНЕ (токсигенность)».

Реагент	Форма выпуска
Диски с антитоксином дифтерийным - бумажные диски диаметром 0,6 см, пропитанные антитоксином диагностическим дифтерийным. Бумажные диски белого или светло-желтого цвета.	2 фл. по 20 дисков

III. НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ, НЕ ПОСТАВЛЯЕМЫЕ С НАБОРОМ РЕАГЕНТОВ.

- термостат;
- микробиологические петли $d = 2$ мм, пинцет;
- спиртовка или газовая горелка;
- чашки Петри с агаром для определения токсигенности коринебактерий;
- токсигенный штамм *Corynebacterium diphtheriae* (ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора РФ);
- слабощелочной питательный агар: коринебакагар (ФГУН ГНЦПМ), или мясопептонный агар (ФСП 42-0084-64-90-05), или Хоттингера агар (ТУ 10-02-02-789-176-94);
- лошадиная сыворотка или сыворотка крови крупного рогатого скота (ФСП 42-3410-97) или гемолизированная кровь.

IV. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ.

- Набор не содержит в своем составе каких-либо опасных биологических агентов; компоненты, составляющие набор не представляют химической и иной опасности.
- Работы, связанные с определением токсигенных свойств *Corynebacterium diphtheriae*, проводить с соблюдением требований санитарно-эпидемиологического режима, в соответствии с СП 1.3.2322-08 «Безопасность работы с микроорганизмами 3-4 групп патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».
- Культуры бактерий и использованные чашки Петри с пробой на токсигенность обезвреживать автоклавированием в паровом стерилизаторе в течение 1 часа при температуре $(126 \pm 2)^\circ\text{C}$ под давлением $1,5 \text{ кгс/см}^2$ (0,15 Мпа) или замачивать на 24 часа в 3 % раствор хлорамина Б или 3 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего средства (СМС). Допустимо применение другого разрешенного к использованию дез. средства.

V. ИНСТРУКЦИИ ПО БЕЗОПАСНОСТИ.

- Все реагенты набора предназначены для диагностики *in vitro*.
- При работе с реагентами набора и исследуемыми образцами необходимо использовать лабораторную одежду и одноразовые перчатки, тщательно промывать руки после работы с ними.

- 84
- Соблюдать меры предосторожности при работе со спиртовкой или газовой горелкой.

VI. ОТБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ.

Исследование проводить с чистой культурой, после определения принадлежности к роду *Corynebacterium* (рассев на пластинчатые среды, микроскопия мазка, окрашенного по Леффлеру).

Для работы использовать культуры, выращенные от 18 до 24 ч при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ на поверхности коринебакагара или слабощелочного питательного агара, содержащего 10% лошадиной сыворотки или сыворотки крупного рогатого скота или 5% гемолизированной крови.

VII. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА.

1. Чашку Петри со средой для определения токсигенности дифтерийных микробов подсушить при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ от 15 до 20 мин, повернув вверх дном чашку и крышку.

2. По истечении указанного времени на поверхность агара стерильным пинцетом поместить индикаторные бумажные диски с антитоксином дифтерийным. Вокруг каждого диска с антитоксином сформировать бактериологической петлей диаметром 2 мм 5 «бляшек» из суточной агаровой культуры: чередуя 2 «бляшки» контрольного токсигенного штамма и 3 «бляшки» испытуемые (из одного анализа с подозрительными колониями сформировать минимум 2 «бляшки» из изолированных колоний и 1 «бляшку» из смеси от 3 до 6 однотипных колоний; материалом из этого же анализа можно занять места вокруг другого диска с антитоксином). Все 5 «бляшек» следует расположить симметрично вокруг диска на расстоянии 0,6 или 0,7 см от его края. Диаметр каждой «бляшки» - 0,7 см. На одной чашке Петри можно разместить до 4-х дисков с антитоксином и, соответственно, до 20 «бляшек» с культурами.

3. Чашки с посевами (вверх дном) поместить в термостат и инкубировать от 24 до 48 ч при температуре $(37 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

VIII. УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ.

1. Учет токсигенности следует проводить через 18-24 ч и окончательно через 48 ч инкубации при температуре $(37,0 \pm 0,5)^\circ\text{C}$.

2. Испытуемые культуры считаются токсигенными, если образуемые ими линии преципитации сливаются под углом с линиями преципитации контрольного токсигенного штамма.

Отсутствие линий преципитации у испытуемых культур через 48 ч при наличии их у контрольного токсигенного штамма указывает на отсутствие токсигенности у изучаемых культур.

IX. СРОК ГОДНОСТИ. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ТРАНСПОРТИРОВКИ.

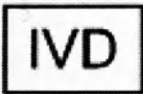
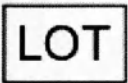
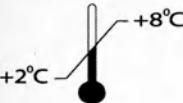
Срок годности - 12 месяцев. По истечении срока годности препарат использованию не подлежит.

Транспортирование в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$. Допустимо транспортирование при температуре от 9 до 20 $^\circ\text{C}$ не более 10 сут. Замораживание не допускается.

Хранение в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 8 $^\circ\text{C}$ в течение всего срока годности, вату из флаконов с дисками не удалять.

Рекламации на специфические и физические свойства препарата направлять в ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу 119002, Россия, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел.: (499) 241-39-22, факс: (499) 241-92-38 и в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, Нижний Новгород, ул. Яблоневая, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.nnov.ru, www.npods.ru.

Х. ОБЪЯСНЕНИЕ СИМВОЛОВ

	ЕС Маркировка (Европейская директива 98/79/CE по in vitro диагностическим МУ)
	Только для лабораторного использования
	Код партии (номер серии)
	Производитель
	Температурные пределы хранения
	Срок годности дата/месяц/год
	Используйте инструкцию по применению

Директор по производству
ООО «Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»



В. К. Пименов

Хрустиков
Игорь



Игорь Хрустиков