УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 200 г. № _____

УТВЕРЖДАЮ
Директор ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии»
_____ И.А. Дятлов
«__» _____ 2012 г.

ИНСТРУКЦИЯ
по применению набора реагентов для быстрой идентификации возбудителя холеры О1 группы «Тест-полоска V. cholerae O1»

1 НАЗНАЧЕНИЕ И ХАРАКТЕРИСТИКА

Набор реагентов «Тест-полоска V. cholerae O1» предназначен для ускоренного выявления и идентификации микробных клеток *Vibrio cholerae* 01 серогруппы при проведении клинической лабораторной диагностики. Специфической мишенью набора является липополисахарид (ЛПС) *Vibrio cholerae* O1 серотипов. ЛПС *Vibrio cholerae O1*, присутствующий в исследуемой пробе, взаимодействует с меченными золотом антителами, образуя окрашенный комплекс антиген-антитело с последующим его накоплением в тестовой зоне. Учет результата проводят визуально.

Набор реагентов включает 10 диагностических полосок белого цвета, состоящих из собранных вместе фильтрационной бумаги и пористого нетканого материала, пропитанного реагентами на реакционной стороне. На тыльной стороне полосок имеется отметка, указывающая направление и предельную глубину погружения полоски, и маркировка, указывающая название определяемого микроорганизма «V. cholerae O1».

2 АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Набор реагентов обеспечивает выявление и идентификацию микробных клеток *Vibrio cholerae O1* :

- в микробной суспензии (концентрация от $1x10^8$ м.к./мл), приготовленной из выращенной на твердых питательных средах при температуре (37 ± 1) °С в течение 18 часов культуры *V. cholerae*;

ЭЛЕКТРОННАЯ КОПИЯ ОФОРМЛЕНА ЦЕНТРОМ ИСПЫТАНИЙ И РЕГИСТРАЦИИ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

- в бульонной культуре, полученной при выращивании исследуемой культуры на жидких питательных средах при температуре (37 ± 1) °С в течение 3 часов.

Набор реагентов обеспечивает выявление *Vibrio cholerae O1* в концентрации от $1x10^8$ м.к./мл.

3 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- 0.01М натрий-фосфатный буфер, pH 7.4 (ФБР);
- пробирки стеклянные;
- пипетки стеклянные или одноразовые пластиковые, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,1 – 0.2 мл;
- чашки Петри;
- микробиологическая петля диаметром 0,3 см;
- отраслевой стандартный образец мутности ОСО 42-25-59-86 П ФГУН ГИСК им. Л.А. Тарасевича Роспотребнадзора.

Варианты питательных сред, рекомендуемых для получения бактериальной массы холерного вибриона:

- питательная среда для выделения и культивирования холерного вибриона сухая, ТУ 9385-039-78095326-2008 (щелочной агар);
- 1% пептонная вода (пептон сухой - 10 г, натрия хлорид - 5 г, калия нитрат - 1 г, натрия карбонат - 2,5 г, дистиллированная вода - до 1 л);
- среда Луриа-Бертани, pH 7,6 (бакто-триптон - 10 г, бакто-дрожжевой экстракт - 5 г, NaCl - 10 г, дистиллированная вода до 1л);
- среда АКІ (NaCl – 12,5 г, дрожжевой экстракт – 10 г, бакто-пептон – 37,5 г, дистиллированная вода до 1,25 л - компонент 1. $NaHCO_3$ – 7,5 г, дистиллированная вода до 1,25 л - компонент 2. Компоненты 1 и 2 смешиваются в пробирке в равных объемах (по 5 мл) непосредственно перед засевом культуры исследуемого штамма, осторожно перемешиваются пипетированием);
- бульон Хоттингера (гидролизат Хоттингера – 0,1 л, натрия хлорид - 5г, аммоний молибденовый кислый – 0,5 г, дистиллированная вода – 0,9 л).

4 МЕРЫ БЕЗОПАСНОСТИ

Подготовку материала и утилизацию использованных наборов реагентов проводят с соблюдением специальной техники безопасности в соответствии с СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I-II групп патогенности (опасности)».

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

5 ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА

Подготовку исследуемого образца к выполнению анализа проводят двумя способами:

1. Исследуемую культуру выращивают на щелочном агаре (pH 7,6) при 37 °С в течение 18 часов. Затем готовят микробную взвесь в физиологическом растворе с концентрацией, соответствующей 5 единицам стандартного образца мутности (ОСО 42-25-59-86 П) эквивалентного $1,1\times10^9$ м.к. холерного вибриона в мл.

2. Предварительное культивирование на жидких питательных средах.

Культуру *V. cholerae*, выращенную в течении 18 часов на щелочном агаре (pH 7,6) в количестве одной стандартной бактериологической петли (диаметр 3 мм) перенести в 5,0 мл одного из вариантов жидкой питательной среды для выращивания холерного вибриона. Инкубировать при 37 °С в течение 3 часов.

6 ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

Внимание: анализ проводится в трех повторах.

1. вскрыть пакет с набором реагентов «Тест-полоска V. cholerae O1», извлечь необходимое количество диагностических полосок и выдержать 15 минут при комнатной температуре (22 ± 2) °С;

2. с помощью пипетки внести в круглодонную пробирку объемом 2 мл не менее 0,15 - 0,20 мл испытуемой взвеси;

3. поместить в пробирку с испытуемой взвесью диагностическую полоску концом, на котором указано направление и глубина погружения, так чтобы уровень взвеси не превышал отметку.

7 РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результата провести через 15-20 минут в соответствии со схемой интерпретации результатов и указателем расположения тестовой (Т) и контрольной (К) зон, приведенным на обороте упаковки.

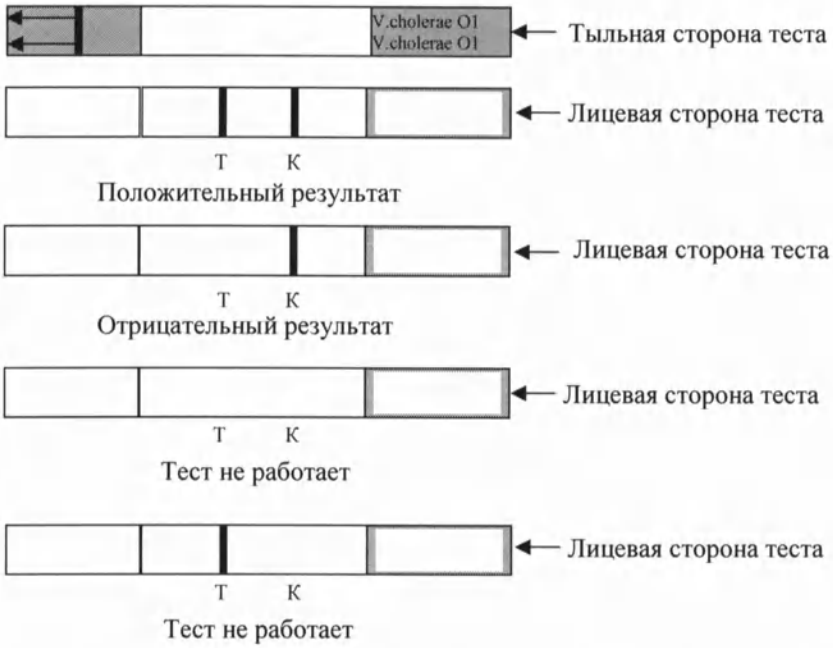
Схема интерпретации результата.

Положительный результат	**Наличие видимых глазом двух окрашенных линий в зонах «Т» и «К»**
Отрицательный результат	**Наличие окрашенной линии только в зоне «К»**
Тест не работает	**Отсутствие окрашенной линии в зоне «К»**
Тест не работает	**Полное отсутствие окрашенных линий**

Внимание: Не следует учитывать интенсивность линий при интерпретации результата.

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Иллюстрация к схеме интерпретации результата:



8 УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Набор реагентов «Тест-полоска V. cholerae O1» необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре 2-8°С. После вскрытия упаковки, тест-полоски можно использовать в течение 7 суток. Набор реагентов «Тест-полоска V. cholerae O1» транспортируют всеми видами крытого транспорта при соблюдении условий хранения или при температуре от 2 до 25 °С не более 7 суток. Срок годности – 12 месяцев со дня изготовления. Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение настоящей инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества набора реагентов «Тест-полоска V. cholerae O1» в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболенск, Московская обл., Серпуховский р-н, ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. 8(4967)36-00-65, 36-01-16.

Зам. директора ФБУН ГНЦ ПМБ по производству, к.х.н. А.П. Шепелин

Директор ФКУЗ «Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока», профессор, д.м.н. С.В. Балахонов

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

Пронумеровано, прошнуровано
скреплено подписью и печатью
4 (четыре)
листов. Подпись
"30" 08 2017

ФБУН ГНЦ ПМБ ДОКУМЕНТОВ

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU

ООО ЦИРМИ INFO@CIRMI.RU WWW.GOSZDRAVNADZOR.RU