Условия отпуска. Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора сывороток для идентификации стрептококков

Производитель: ООО «НПО АКВАПАСТ», Санкт-Петербург. Текст инструкции опубликован производителем на сайте akvapast.ru/dokumenty.

групп A, B, C, D, F, G в реакции преципитации

1. Назначение

Идентификация в реакции преципитации стрептококков групп A, B, C, D, F, G, выделенных из клинического материала от больных и носителей.

Набор сывороток рассчитан на проведение 50 анализов для каждой группы.

2. Характеристика набора

2.1. Принцип действия

Сыворотки для идентификации стрептококков групп A, B, C, D, F, G получены путем иммунизации кроликов вакцинами, приготовленными из референс-штаммов стрептококков серологических групп A, B, C, D, F, G и предназначены для групповой идентификации гемолитических стрептококков в реакции преципитации. При идентификации групповой принадлежности гемолитических стрептококков, выделенных от больных и носителей, необходимо в качестве контроля использовать стандартный препарат, содержащий групповой полисахарид, полученный по методу Фуллера (форма-мидная экстракция микробных клеток).

2.2. Состав набора:

- Кроличьи групповые антистрептококковые сыворотки, жидкие;

- Экстракты группового полисахарида соответствующих референс-штаммов стрептококков, полученные по методу Фуллера.

3. Описание

Кроличьи групповые антистрептококковые сыворотки – опалесцирующие жидкости желтоватого цвета; экстракты группового полисахарида соответствующих референс-штаммов стрептококков, полученные по методу Фуллера,- прозрачные бесцветные жидкости.

4. Меры предосторожности.

4.1. Потенциальный риск применения набора – класс 1.

4.2. Все компоненты набора являются нетоксичными.

4.3. 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.).

4.4. Химическая посуда и оборудование, которые используются в работе с набором, должны быть соответствующим образом промаркированы и храниться отдельно.

4.5. Запрещается прием пищи, использование косметических средств и курение в помещениях, предназначенных для работы с набором.

4.6. При подготовке к проведению анализа следует соблюдать меры предосторожности, принятые при работе с потенциально инфекционным материалом:

- работать в резиновых перчатках,

- не пипетировать растворы ртом.

- все использованные материалы дезинфицировать в соответствии с требованиями СП 1.3.2322-08 и МУ-287-113.

5. Оборудование и материалы.

При применении набора для постановки анализа используют:

- термостат, поддерживающий температуру 37±1°С;

- холодильник бытовой;

- пипетки полуавтоматические одноканальные с переменным или фиксированным объемом со сменными наконечниками, позволяющими отбирать объемы жидкости от 5 до 5000 мкл (погрешность не более 5%);

- перчатки резиновые хирургические;

- бумага фильтровальная лабораторная;

- флаконы стеклянные вместимостью 15 мл;

- пробирки вместимостью 2 мл;

- цилиндр мерный 2-го класса точности вместимостью 1000 мл;

- колба вместимостью 1000 мл;

- вода очищенная.

6. Способ применения.

6.1. Методы экстракции группового антигена из исследуемой культуры стрептококка.

6.1.1 Метод Фуллера (формамидная экстракция):

18-20 часовую культуру стрептококка, выращенную в 10 мл среды Тодд-Хевит при 37°С, центрифугируют в течение 20-30 минут при 1500g; осадок микробных клеток суспендируют в 0,2 мл формамида и выдерживают в течение 10 минут при 160°С в масляной бане; быстро охлаждают; добавляют 0,5 мл кислого этилового спирта (на 49мл этилового спирта 1,0мл концентрированной соляной кислоты); выдерживают 15-20 минут до образования преципитата; центрифугируют в течение 30 минут для осаждения преципитата; отделяют супернатант от осадка и добавляют к супернатанту 1-2 мл ацетона для образования преципитата, который осаждают центрифугированием; полученный преципитат растворяют в 0, 6 мл физиологического раствора и доводят pH раствора до 7,2, используя 0, 2М раствор NaOH.

6.1.2. Метод Ленсфилда (экстракция соляной кислотой):

Осадок, полученный после центрифугирования 30-40 мл бульонной (среда Тодд-Хевит) культуры стрептококков, суспендируют в 0,35мл 0,2М HCl; выдерживают суспензию в кипящей водяной бане (100°С) в течение 10 минут; охлаждают и нейтрализуют до pH 7,2.

6.2. Методы групповой идентификации стрептококков групп A, B, C, D, F, G

6.2.1. Преципитация в капилляре (внутренний диаметр стеклянного капилляра 0,5-1,2мм, длина 2-8мм): конец капилляра опускают в группоспецифическую сыворотку для заполнения капилляра на 1см, затем конец капилляра опускают в исследуемый стрептококковый экстракт для заполнения капилляра еще на 1 см; капилляр закрепляют в пластилиновом штативе сывороткой над экстрактом. Реакция учитывается через 2 минуты при комнатной температуре. Реакция, появляющаяся после 30 минут, не учитывается. В качестве контроля служит реакция группоспецифической сыворотки со стандартным групповым полисахаридом соответствующего референс-штамма стрептококка.

6.2.2. Реакция кольцепреципитации (используется часть пастеровской пипетки с внутренним диаметром около 0,5см, длиной 3-4 см и запаянным коническим концом,: капилляр устанавливается в штатив с пластилином): в капилляр вносится порядка 20-25мкл группоспецифической сыворотки, на которую осторожно наслаивается 20-25 мкл стрептококкового экстракта. Реакция кольцепреципитации (кольцо преципитации

на границе экстракта и иммунной сыворотки), учитывается в течение 5 минут. Реакция, появляющаяся после 5 минут, не учитывается как положительная. В качестве контроля служит реакция группоспецифической сыворотки со стандартным групповым полисахаридом соответствующего референс-штамма стрептококка.

6.2.3. Преципитация в агаровом геле. Используется высокоочищенный 1% агар в забуференном фосфатами физиологическом растворе (ФБС). Расплавленный агар наносится высотой 1 мм на обезжиренное предметное стекло для микроскопа или на дно чашки Петри, которые помещаются во влажную камеру. Перед постановкой реакции преципитации в агаровом геле отсасывают лунки - одна в центре и 6 по периферии – диаметром 3мм и расстоянием между центрами центральной и периферических лунок 7,5мм. В центральную лунку вносят групповую сыворотку, в периферические – испытуемые экстракты, включая экстракт из соответствующего референс-штамма стрептококка. Объем вносимого материала- 2-10 мкл. Реакция учитывается через 18-20 часов при инкубации при комнатной температуре или через 48 часов при инкубации при температуре 4°С. В случае идентичности антител сыворотки, внесенной в центральную лунку, и антигена в какой-либо периферической лунке в прозрачном слое агара между этими двумя лунками образуются полоски (дуги) из выпавшего преципитата. В качестве контроля служит реакция группоспецифической сыворотки со стандартным групповым полисахаридом соответствующего референс-штамма стрептококка.

7. Форма выпуска.

- Кроличьи групповые антистрептококковые сыворотки

(A, B, C, D, F, G) по 1 фл.- 1,0мл;

- Экстракты группового полисахарида соответствующих

референс-штаммов стрептококков по 1 фл.-0,5мл.

- Инструкция по применению.

8. Срок годности.

Срок годности набора – 12 месяцев со дня приемки ОБТК предприятия-изготовителя.

По истечению срока годности набор использованию не подлежит.

9. Условия хранения и транспортирования.

Транспортирование набора должно проводиться при температуре от 2 до 8 °С. Допускается транспортирование при температуре от 9 до 20 °С не более 10 дней.

Хранение набора в упаковке предприятия-изготовителя должно производиться при температуре от 2 до 8 °С.

10. Условия отпуска.

Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.