

**ИНСТРУКЦИЯ**  
**ПО ПРИМЕНЕНИЮ НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ БЫСТРОЙ**  
**ИДЕНТИФИКАЦИИ ВОЗБУДИТЕЛЯ ХОЛЕРЫ O1 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* O1 серогруппы при проведении клинической лабораторной диагностики. Специфической мишенью набора является липополисахарид (ЛПС) *Vibrio cholerae* O1 серогруппы. ЛПС *V. cholerae* O1, присутствующий в исследуемой пробе, взаимодействует с мечеными 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 *V. cholerae* O1:

- в микробной суспензии (концентрация от  $1 \times 10^8$  м.к./мл), приготовленной на физиологическом растворе из выращенной на твердых питательных средах при температуре  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$  в течение 18 часов культуры *V. cholerae*;
- в бульонной культуре, полученной при выращивании исследуемой культуры на жидких питательных средах при температуре  $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$  в течение 3 часов.

Набор реагентов обеспечивает выявление *V. cholerae* O1 в концентрации от  $1 \times 10^8$  м.к./мл.

### **3 ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ**

- 0,85% раствор хлорида натрия (физиологический раствор);
- пробирки стеклянные;
- пипетки стеклянные или одноразовые пластиковые, позволяющие отбирать объемы жидкости 0,1 – 0,2 мл;
- чашки Петри;
- иммунологический планшет;
- 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 Лурия-Бертани, рН 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<sub>3</sub> – 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 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, выполнение тестирования и утилизацию использованных наборов реагентов проводят с соблюдением требований биологической безопасности в соответствии с СП 1.3.1285-03 «Безопасность работы с микроорганизмами I - II групп патогенности».

### **5 ПОДГОТОВКА К ВЫПОЛНЕНИЮ АНАЛИЗА**

Подготовку исследуемого образца к выполнению анализа проводят двумя способами:

1. Исследуемую культуру выращивают на щелочном агаре (рН 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  $1,1 \times 10^9$  м.к. холерного вибриона в мл.

2. Предварительное культивирование на жидких питательных средах.

Культуру *V. cholerae*, выращенную в течении 18 часов на щелочном агаре (рН 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 повторях.*

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

2. с помощью пипетки внести в круглодонную пробирку или в лунку иммунологического планшета не менее 0,15 - 0,20 мл испытуемой взвеси (культуральной жидкости);

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

## 7 РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

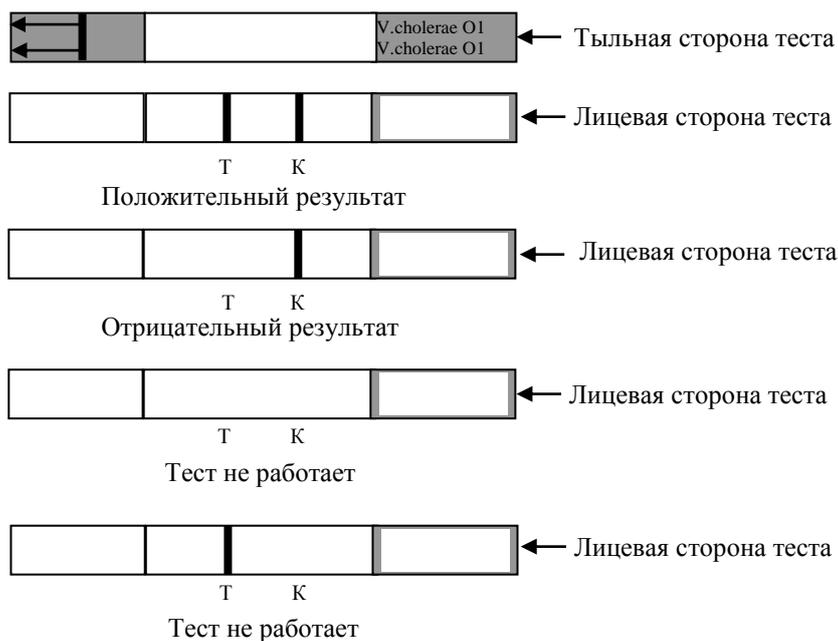
Учет результата провести через 15-20 минут в соответствии со схемой интерпретации результатов и указателем расположения тестовой (Т) и контрольной (К) зон, приведенным на обороте упаковки.

**Схема интерпретации результата.**

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

*Внимание: Не следует учитывать интенсивность линий при интерпретации результата.*

### 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°C. 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.