

Biocult - GC (Биокульт ГК- кат. № 68000)

Культуральный метод для диагностики Neisseria Gonorrhoeae



№68000 – 10 тестов

Производство

Форма выпуска

Тубы со слайдами (тесты)	–	10 штук
Стикеры	-	10 штук
СО ₂ - газогенераторные таблетки	-	2 x 10 штук
Инструкция		

Дополнительные реагенты (отдельным набором):

Оксидазный реагент (Biocult – GC oxidase reagent №68008)

Принцип

Биокульт – слайд тест, на обе стороны которого нанесена питательная среда для диагностики нейсерии гонореи (*N. Gonorrhoeae*). Среда представляет из себя модифицированный агар Тауер - Мартина, содержащий лошадиную кровь и сыворотку. Селективность среды обеспечивается добавлением колестина, триметоприма, ванкомицина и анизомидина. Рост большинства других бактерий и дрожжей, присутствующих во флоре эндоцервикса, уретры и прямой кишки ингибируется (однако большинство стрептококков, некоторые виды микрококков и дрожжей могут давать колонии на данной среде). Данный метод позволяет лечебным учреждениям с ограниченными лабораторными возможностями определять гонококки. Слайды служат одновременно и транспортной и культуральной питательной средой.

Гонококки очень требовательны к условиям выращивания и нуждаются в специфических факторах роста. Они очень чувствительны к факторам внешней среды: температура, влажность и содержание кислорода. Большинство штаммов гонококков имеют потребность в углекислом газе для роста. Газогенераторные таблетки обеспечивают создание в тубе с исследуемым образцом условий с повышенным содержанием углекислого газа (таблетки упакованы в алюминиевую фольгу).

Отдельно упакованный Оксидазный реагент (1 % водный раствор тетраметил-р-фенилендиамин дигидрохлорида) позволяет произвести первичную идентификацию (подтверждение) колоний нейсерии гонореи и является общим подтверждающим тестом, основанным на ферментации углеводов или иммунологическом тестировании.

Выделение чистой культуры и дальнейшее изучение с помощью микроскопии является традиционными методами изучения урогенитальной гонореи. Типично, после 24-й инкубации

гонококки выглядят на данной селективной среде, как не прозрачные серовато-белые рельефные, блестящие колонии диаметром 0,5 – 1 мм. После 48-й инкубации могут становиться слизеподобными (мукойдными). При окраске по Грамму, N. Gonorrhoeae Грам- отрицательные формы диплококки (гонококки)

Состав среды:

Колумбийский кровяной агар питательная основа	48,0 г/л
Агар-агар	5,0 г/л
Цистеин Л	0,3 г/л
Цистин Л	1,3 г/л
Лошадиная кровь	5,0 г/л
Анизомицин р-р	7,0 мл/л
Раствор для обогащения	123 мл/л

Состав раствора для обогащения:

Лошадиная сыворотка	813 мл/л
Ванкомицин	0,048 г/л
Колистин	0,061 г/л
Триметоприм Лактат	0,057 г/л
Витаминный раствор:	81,3 мл/л

Аденин, Гуанин, Аминобензойная к-та, Глутамин, Железо (3) нитрат, Глюкоза, Витамин В 12, Никотинамид-аденин динуклеотид, Кокарбоксилаза, Тиамин.

Предостережения

Биокульт предназначен только для использования **in vitro**.

Не используйте набор после истечения срока его годности.

Не используйте набор при обнаружении подсыхания и растрескивания агара, изменения цвета среды или каких-либо других дефектов.

Из-за того, что некоторые виды микроорганизмов, которые растут на Биокульт, являются патогенными, не прикасайтесь к колониям.

Не используйте таблетки для создания CO₂ атмосферы из открытых или поломанных пачек.

Хранение

Урикульт следует хранить в холодильнике при температуре от + 4 до +8 °С в закрытом виде, избегая температурных колебаний и действия прямых солнечных лучей.

Не замораживать.

Срок годности указан на коробке.

Условия отбора и хранения исследуемых образцов

Образец собирается с использованием стерильных Дакроновых или альгинатных свабов.

(если данных свабов нет, то предпочтение следует отдавать тампонам из синтетической ваты, т.к. тампоны из хлопковой ваты могут подавлять рост гонококков)

Для женщин: Возьмите образцы из уретры или цервикса и произведите посев на Биокульт. Для скрининга рекомендуется использовать отделяемое из цервикса. Материал необходимо забирать из внутришеечного канала не допуская загрязнения исследуемого материала микрофлорой влагалища, которая может подавлять рост *N.Gonorrhoeae*

Для мужчин: Возьмите образец из передней части уретры и произведите посев на Биокульт. Диагноз гонореи у мужчин часто может быть поставлен на основе первичной окраски по Грамму, отделяемого из уретры.

В определенных случаях, если необходимо можно взять образцы из ректума.

Н.В.: антибиотикотерапия и контаминация образца лекарственными препаратами может отрицательно влиять на результат посева на Биокульт.

Выполнение теста

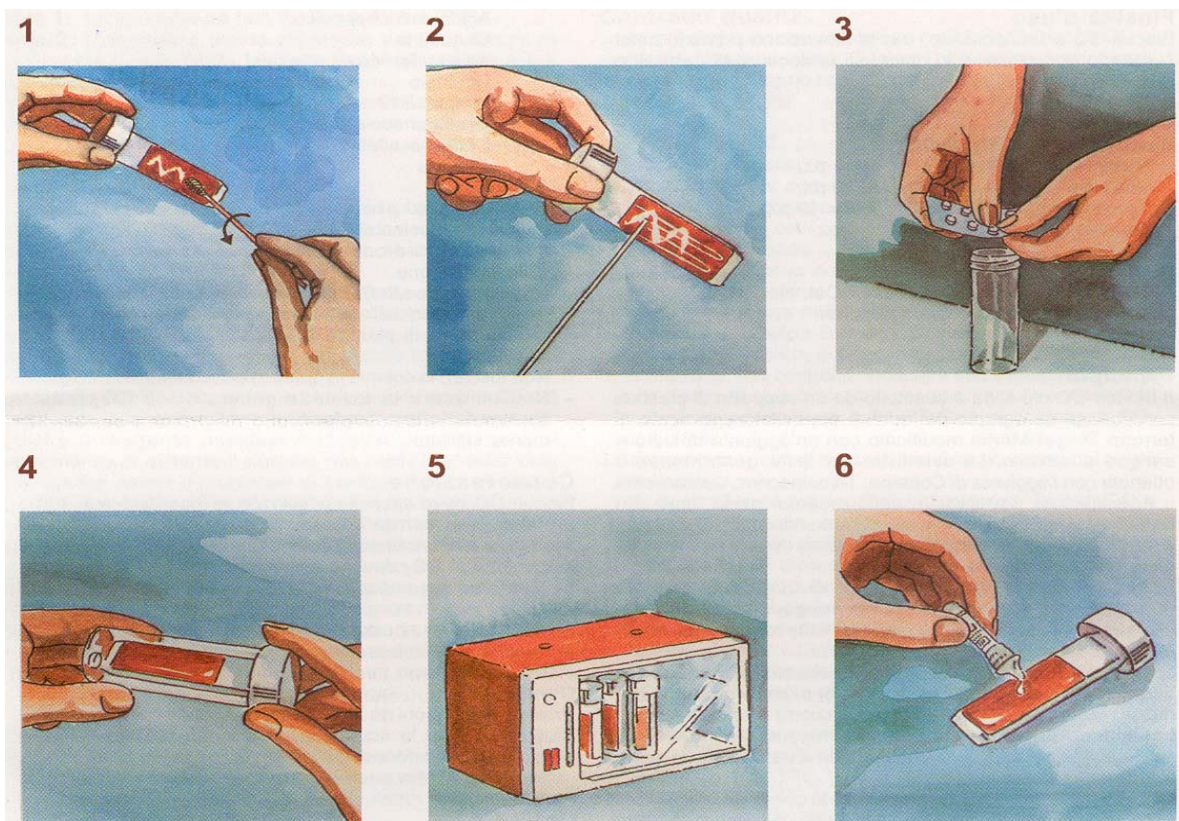
Перед проведением теста необходимо, вынуть слайд из холодильника и оставить при комнатной температуре, чтобы правильно произвести посев образца(слайд должен быть комнатной температуры)

1. Отвинтите крышку и извлеките слайд из флакончика, стараясь не повредить при этом поверхности агара. Нанесите материал на обе стороны пластины, осторожно вращая тампоном по поверхности пластины. Используйте только лишь половину каждой поверхности для первичного посева. Для каждого образца должна быть использована отдельная пластина.
2. Используя новую стерильную петлю проведите вторичные полосы через первичный посев (полосы должны быть направлены перпендикулярно направлению полос первичного посева).
3. Асептично возьмите одну таблетку для создания CO₂ атмосферы и опустите ее в тубус Биокульты. Пользуйтесь пинцетом, если необходимо. Таблетка может быть выдавлена через фольгу прямо в тубус.
4. Поместите слайд обратно во флакончик и плотно закройте его, не разбивая таблетки.
5. Заполните сопроводительные документы и прикрепите к флакончику.
7. Поместите флакончик в вертикальном положении в термостат при температуре 34-37 °C на 48 часов.

Примечание 1: Температура при инкубации не должна превышать 37 °C.

Примечание 2: Влажная атмосфера внутри трубки с повышенным содержанием CO₂ производится действием газогенераторной таблетки (высвобождается диоксид карбоната)

Примечание 3: Если через 24 часа в тубе наблюдается рост, то необходимо добавить в тубу новую газогенераторную таблетку перед постановкой в термостат на следующие 24 часа.



Интерпретация результатов

Достаньте пластинку из тубуса и проверьте наличие колоний на поверхности Биокульты. Первичную идентификацию на *N. Gonorrhoeae* произведите с помощью оксидазного реактива. Стеклоанну ампулу реагента сначала разбейте путем сжимания пластиковой пробирки, (см. инструкцию по применению). Одну каплю реактива нанесите на колонии, находящиеся на одной из сторон слайда. Колонии гонококка окрашиваются от темно-синего до черного цвета в течение 20-30 сек. Реакция учитывается не позднее 60 сек. Оксидазный реактив токсичен для бактерий, поэтому рекомендуется наносить его только на одну сторону, тщательно защищая другую, для дальнейшего исследования и верификации результатов. Даже, если нет видимого роста колоний через 48 часов, рекомендуется нанести на среду оксидазный реагент для обнаружения мельчайших колоний.

Обнаружение оксидазо-положительных, грам-негативных диплококков на среде Биокульт может быть расценено как доказательство принадлежности выращенных бактерий к *N. Gonorrhoeae*. Данный тест может быть отправлен в лабораторию для дальнейшего исследования. Перед отправлением пластины вылейте образовавшийся конденсат и выньте таблетку (для создания CO₂ атмосферы) из тубы. Неокрашенные колонии *N. Gonorrhoeae* можно брать для дальнейшего пересева на питательные среды в течение 72 часов после первичной инокуляции.

Оценка результатов.

Хотя *N. Gonorrhoeae* иногда выделяется у пациентов с бессимптомным течением заболевания, полученный результат всегда рассматривается, как положительный.

Ограничения в пределах исследования

Биокульт – высоко избирательная среда, подавляющая рост большинства контаминантов.

Контаминанты, которые могут расти на данной среде:

1. Стрептококки; нет положительной оксидазной реакции.
2. Псевдомонадо-подобные микроорганизмы – оксидазопозитивные, но они практически ингибируются при выращивании на данной среде.
3. Дрожжи; оксидазопозитивные после 1 мин, но отличны от гонококков по морфологии колоний и грам – положительные. Антибиотики, включенные в среду могут ингибировать некоторые виды *N. Gonorrhoeae*. Если отрицательный результат на Биокульте получен от пациента у которого клинически подозревается наличие гонококковой инфекции, необходимо произвести дополнительный посев на более общую, неселективную среду.

Основные характеристики

Среда Biocult - GC

Kontiainen 1993 Прямое обнаружение *N. Gonorrhoeae* у пациентов *Genitourinary Medicine* 69: 405-406.

Количество образцов	330
Чувствительность	85 %
Специфичность	99 %
ПЗП	98 %
ПЗО	100 %
Референсный метод	селективная среда Тауер-Мартина

Контроль качества.

Контроль качества проводится для каждой новой партии Биокульты (каждого лота) во время производства. Для этого используется следующая процедура.

1. Готовится специальная бактериальная суспензия $10^5 - 10^6$ КОЕ/мл для каждого из указанных микроорганизмов

- *Neisseria gonorrhoeae* ATCC 43069

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- *Escherichia coli* ATCC 25922
- *Proteus mirabilis* ATCC 43071
- *Candida albicans* ATCC 14053

2. Полученная суспензия наносится на слайд Биокульт согласно Инструкции.

3. Оцените результаты посева после 48 часовой инкубации при температуре 34-37⁰С.

- Neisseria gonorrhoeae*. Обильный рост на среде Биокульт и на шоколадном агаре (не прозрачные серовато-белые рельефные, блестящие колонии диаметром 0,5 – 1 мм).
- Staphylococcus aureus*: Видимый более слабый рост на среде Биокульт, чем на шоколадном агаре.
- Escherichia coli*: Видимый более слабый рост на среде Биокульт, чем на шоколадном агаре.
- Proteus mirabilis*: Видимый более слабый рост на среде Биокульт, чем на шоколадном агаре.
- Candida albicans*: Видимый более слабый рост на среде Биокульт, чем на шоколадном агаре.

Утилизация используемых слайдов

Поскольку на инкубированных слайдах находятся бактериальные культуры, следует относиться к ним с осторожностью. Утилизация слайдов может быть произведена посредством сжигания, погружения в раствор с обеззараживающими средствами или их уничтожением в автоклаве (можно также использовать прессование).