



INSTITUTUL NAȚIONAL DE CERCETARE DEZVOLTARE
PENTRU MICROBIOLOGIE ȘI IMUNOLOGIE
„CANTACUZINO”

Splaiul Independenței 103, București, 050096

LABORATORUL NATIONAL DE REFERINTA PENTRU ITS

| | Elaborat | Verificat | Aprobat |
|--------------|-----------------|------------------|--------------|
| Functia | Sef laborator | Manager calitate | Director LNR |
| Nume prenume | Dr. Dan Ionescu | | |
| Semnatura* | | | |
| Data | | | |

* Semnatura se aplică pe documentul original

PROCEDURA SPECIFICA

IDENTIFICARE/CONFIRMARE *NEISSERIA GONORRHOEAE*
IZOLATĂ DIN SECREȚII

Cod:

Editia :

Revizia :

Data aplicarii :

Avertisment

*Documentul de fata este proprietatea I.N.C.D.M.I. « CANTACUZINO »
Reproducerea si difuzarea documentului sunt in exclusivitate dreptul I.N.C.D.M.I. «CANTACUZINO»
Copiile sunt numerotate si controlate.*

Exemplar nr : _____

Destinatarul: _____

Exemplar : controlat necontrolat

| | | |
|---|---|-----------------|
| I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO LNR ITS | PROCEDURA SPECIFICĂ IDENTIFICARE/CONFIRMARE NEISSERIA GONORRHOEAE IZOLATĂ DIN SECREȚII cod : | Exemplar nr.: |
| | | Ediția: |
| | | Revizia: |
| | | Data aplicării: |

INDICATORUL APROBARILOR SI REVIZIILOR

| Revizia/ Data | Elementele modificarii (capitol, pagina, alineat) | Elaborat (nume, prenume, semnatura*) | Verificat (nume, prenume, semnatura*) | Aprobat (nume, prenume, semnatura*) |
|------------------|--|--|---|---|
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

* Semnatura se aplică reviziei curente

| | | |
|---|---|-----------------|
| I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO LNR ITS | PROCEDURA SPECIFICĂ IDENTIFICARE/CONFIRMARE NEISSERIA GONORRHOEAE IZOLATĂ DIN SECREȚII cod : | Exemplar nr. |
| | | Ediția: |
| | | Revizia: |
| | | Data aplicării: |

CUPRINS

| | |
|---|---|
| INDICATORUL APROBARILOR SI REVIZIILOR..... | 2 |
| CUPRINS | 3 |
| 1. SCOP..... | 4 |
| 2. DOMENIUL DE APLICARE..... | 4 |
| 3. DOCUMENTE DE REFERINTA..... | 4 |
| 4. DEFINITII SI PRESCURTARI..... | 4 |
| 4.1. Definitii | 4 |
| 4.2. Prescurtari..... | 4 |
| 5. DESCRIEREA ACTIVITATII..... | 4 |
| 5.1. Condiții prealabile | 4 |
| 5.2. Resurse necesare | 4 |
| 5.2.1. Reactivi si Materiale..... | 4 |
| 5.2.2. Echipamente | 4 |
| 5.3. Etapele procedurii..... | 4 |
| 6. RESPONSABILITATI | 5 |
| 7. FORMULARE / INREGISTRARI, DOCUMENTE CONEXE | 5 |
| 7.1. FORMULARE / INREGISTRARI..... | 5 |
| 7.2. DOCUMENTE CONEXE | 5 |
| 8. ANEXE | 5 |

| | | |
|---|---|-----------------|
| I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO LNR ITS | PROCEDURA SPECIFICĂ IDENTIFICARE/CONFIRMARE NEISSERIA GONORRHOEAE IZOLATĂ DIN SECREȚII cod : | Exemplar nr. |
| | | Ediția: |
| | | Revizia: |
| | | Data aplicării: |

1. SCOP

Procedura descrie operațiunile necesare pentru izolarea, identificarea și confirmarea speciei *Neisseria gonorrhoeae* în cadrul genului *Neisseria*.

2. DOMENIUL DE APLICARE

Procedura se aplică în diagnosticul infecției gonococice la om. Se execută pe tulpini izolate din secreții (genitale, faringiene, rectale, oculare) de către personalul autorizat în cadrul Laboratorului Infecții cu Transmisie Sexuală din **I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO**.

3. DOCUMENTE DE REFERINȚĂ

- 3.1. Manualul Calitatii cod – MC-EM-01
- 3.2. Bench-level Laboratory Manual for Sexually Transmitted Diseases WHO/VDT/89.443
- 3.3. Manual for the Laboratory Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing of Bacterial Pathogens of Public Health Importance in the Developing World – WHO 2003
- 3.4. Manual of Clinical Microbiology - 7th ed., 1999 – Murray et al.
- 3.5. Clinical Practice in STD – 1989, Robertson et al.
- 3.6. Laboratory Methods for the Diagnosis of Sexually Transmitted Diseases – 1987, Wentworth- Judson

4. DEFINIȚII SI PRESCURTARI

4.1. Definiții N.A.

4.2. Prescurtari

ID/SN = număr de identificare/număr de serie
 API-NH = Sistem Identificare *Neisseria-Haemophilus*
 GC = mediul baza Gelose - Chocolate

5. DESCRIEREA ACTIVITĂȚII

5.1. Condiții prealabile

- Temperatura camerei de lucru trebuie să fie de + 20+25°C.
- Dispozitivele necesare executării procedurii trebuie să fie în stare de bună funcționare.
- Probele care se prelucrează trebuie să corespundă din punct de vedere cantitativ și calitativ. Sunt acceptate numai probele care au fost transportate maximum 24h în sub formă de tampon în mediu de transport la temperatura de +18+25°C.
- Pregătirea postului de lucru pentru executarea procedurii și asigurarea măsurilor de biosiguranță (hota cu flux laminar).
- Reactivii și mediile de cultură utilizate în procedură se aduc la temperatura camerei
- Însămânțarea probei se face cât mai rapid de la primire.
- Personalul desemnat să execute testările trebuie să aibă calificarea/experiența necesară.

5.2. Resurse necesare

5.2.1. Reactivi și Materiale

- Medii de cultură (mediu selectiv și mediu neselectiv, medii de crioprezervare și liofilizare), preparate cf. Instrucțiunii de lucru prepararea mediilor de cultura, crioprezervare și liofilizare pentru *N.gonorrhoeae* Cod :
- Reactivi : oxidază, superoxol, β-lactamază, trusă API, trusa coloranți Gram
- Stative potrivite, anse bacteriologice de unică folosință
- Vas cu soluție dezinfectantă (hipoclorit de sodiu 05-1%, alcool etilic 70⁰), hartie de filtru, manșuri latex

5.2.2. Echipamente :

- Termostat + 35.5+37°C cu CO₂ sau excicator cu lumânare sau plicuri generatoare de CO₂
- Microscop obiectiv imersie
- Hotă cu flux laminar
- Pipeta automată, 20-200μl

5.3. Etapele procedurii

Execuția operațiilor în succesiunea lor și rezultatele se înregistrează în :

FIȘĂ DE LUCRU IZOLARE, IDENTIFICARE ȘI CARACTERIZARE *NEISSERIA GONORRHORAE* Cod:

FORMULAR DE INREGISTRARE REZULTATE CARACTERE IDENTIFICARE *NEISSERIA gonorrhoeae* Cod :

FIȘĂ DE PREPARARE ȘI CONTROL MEDII Cod :

5.3.1. Primirea și insămânțarea probelor

- Probele sunt primite pe tampon imersionat în mediu de transport.

| | | |
|---|---|-----------------|
| I.N.C.D.M.I. CANTACUZINO LNR ITS | PROCEDURA SPECIFICĂ IDENTIFICARE/CONFIRMARE NEISSERIA GONORRHOEAE IZOLATĂ DIN SECREȚII cod : | Exemplar nr. |
| | | Ediția: |
| | | Revizia: |
| | | Data aplicării: |

- Tamponalele sunt însămânțate imediat pe mediu selectiv (GC-hemoglobină+supliment nutritiv+supliment selectiv) și incubate 18-48h la + 37°C, în atmosferă umedă, 5%CO₂.

5.3.2. Obținerea de cultură pură

- În intervalul 18-48h se examinează periodic plăcile insamantate (macroscopic) pentru a observa apariția și creșterea coloniilor bacteriene.
- Se selectează plăcile în care au crescut colonii cu morfologie caracteristică pentru *Neisseria* : umede, roz-gri
- Din colonii izolate se execută
 - frotiuri care se fixează și colorează Gram și se examinează microscopic
 - testul Oxidazei
- Se repică colonii izolate oxidazo-pozitive, formate din diplococi Gram negativi, se insamantează pe mediu neselectiv (GC-hemoglobină-supliment nutritiv) și se incubează ca la pct.5.3.1.

5.3.3. Identificare/confirmare

- Colonii izolate din cultura pură, cu morfologie caracteristică pentru *Neisseria* (umede, roz-gri) se caracterizează după cum urmează :
 - Se repeta frotiul, examinarea microscopică și testul oxidazei
 - Se execută testul superoxol
 - Pe colonii oxidazo-pozitive, superoxol-pozitive, formate din diplococi Gram negativi se execută testul API (galeria API-NH conține și un godeu pentru determinarea β-lactamazei).
- Se confirmă *Neisseria gonorrhoeae* : cultura care fermentează glucoza și este prolin-amil amidază (ProA) pozitivă

5.3.4. Conservarea tulpinilor

Tulpinile confirmate sunt conservate prin păstrare la – 20°C (pentru maxim 2 luni) sau la -70°C (pentru 12 luni) în mediu crioprotector (TSB 20% glicerol sau DMSO) sau, liofilizate.

6. RESPONSABILITATI

Procedura este efectuată de către asistent medical.
Verificarea execuției procedurii este efectuată de către șeful de laborator.

7. FORMULARE / INREGISTRARI, DOCUMENTE CONEXE

7.1. FORMULARE / INREGISTRARI

- 7.1.1. FIȘĂ DE LUCRU IZOLARE, IDENTIFICARE SI CARACTERIZARE *NEISSERIA GONORRHORAE* cod:
7.1.2. FORMULAR DE INREGISTRARE REZULTATE CARACTERE IDENTIFICARE *NEISSERIA GONORRHOEAE* cod :

7.2. DOCUMENTE CONEXE

- 7.2.1. INSTRUCȚIUNE DE LUCRU PREPARAREA MEDIILOR DE CULTURĂ, CRIOPROTECȚIE ȘI LIOFILIZARE PENTRU *N.GONORRHOEAE* cod :
7.2.2. INSTRUCȚIUNE DE LUCRU COLORATIA GRAM cod :
7.2.3. INSTRUCȚIUNE DE LUCRU TESTUL OXIDAZEI cod :
7.2.4. INSTRUCȚIUNE DE LUCRU TESTUL SUPEROXOL cod:
7.2.5. INSTRUCȚIUNE DE LUCRU TESTUL β LACTAMAZEI cod :
7.2.6. INSTRUCȚIUNE DE LUCRU SISTEM IDENTIFICARE API-NH cod :
7.2.7. INSTRUCȚIUNE DE LUCRU PREZERVAREA SI STOCAREA TULPINILOR DE *N.GONORRHOEAE* cod :

8. ANEXE

- Anexa 1. Model FIȘĂ DE LUCRU IZOLARE, IDENTIFICARE SI CARACTERIZARE *NEISSERIA GONORRHORAE* cod:
Anexa 2. Model FORMULAR DE INREGISTRARE REZULTATE CARACTERE IDENTIFICARE *NEISSERIA GONORRHOEAE* cod :
Anexa 3. Model FIȘĂ DE PREPARARE SI CONTROL MEDII cod :