

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ООО «Био-Рад Лаборатории»

Бобровник Е.В.



/ 2009 г.

Инструкция по применению изделия медицинского назначения

**«Среды микробиологические и их компоненты
для in vitro исследований»**

IVD

1. Сфера применения

Бульон Анаэр использовать для первичного культивирования:

- строгих неспорообразующих анаэробов (*Bacteroides*, *Fusobacterium*)
- строгих спорообразующих анаэробов (*Clostridium*)
- факультативных анаэробов (*Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterobacteriaceae*)

2. Принцип

Бульон Анаэр обогащен факторами роста, такими как гемин, а также восстанавливающими агентами, как цистеин и глюкоза, что является оптимальным для роста всех анаэробных бактерий.

3. Фасовка

Готовая к использованию среда: 25 пробирок по 13 мл

Кат. № 53683

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Пептоны	8.06
Дрожжевой экстракт	4.75
Мясной экстракт	2.85
Глюкоза	7.75
Гемин	0.0065
Цистеин	0.45
Трис-буфер	0.45
Агар	0.75

5. Хранение

Готовая среда: при +2-8°C.

Срок годности и номер серии указан на упаковке.

6. Методика использования

Поставляемый материал: Среда Анаэр

Предупреждение: Перед использованием удалить кислород из среды ее прогреванием в течение 20 минут при 100°C. Охладить среду и инокулировать.

Инокуляция:

Среда может быть инокулирована материалом, полученным из раны, абсцесса, культуры крови, аспирационной жидкостью (плевральной, перикардальной, суставной) или аспиратом из трахеи. Материал инокулировать максимально быстро. Если невозможно доставить материал в лабораторию в течение 30 минут, использовать транспортную среду ТГВ Анаэр (Кат. № 50458). Плотно закрыть пробирку.

Инкубация:

От 24 до 48 часов при 37°C.

Регистрация результатов:

Помутнение сред указывает на бактериальный рост.

7. Внешний вид/ Контроль качества

Готовая к использованию среда – желтая полутвердая среда.

Ростовые характеристики среды Анаэр проверены на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24 - 48 часов при 37°C
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Хороший рост
<i>Bacteroides fragilis</i> ATCC 25285	Хороший рост
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i> CIP 602	Хороший рост

8. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствие с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

9. Ограничения

Некоторые штаммы могут не расти на этой среде из-за их ростовых потребностей.
Некоторые медленнорастущие бактерии могут расти в течение 2 недель.
Для вдовой идентификации изолированных штаммов проводить дополнительные тесты.



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33



11/200



NEISSERIA 4H
10 ТЕСТОВ

53740

ОПРЕДЕЛЕНИЕ NEISSERIA И BRANHAMELLA ЗА 4 ЧАСА

IVD

СОДЕРЖАНИЕ

1 – КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ 2

2 – ПРИНЦИП ТЕСТА 2

3 – КОМПЛЕКТ – ХРАНЕНИЕ – СРОК ГОДНОСТИ 2

4 – СОСТАВ КОМПЛЕКТА..... 3

5 – МЕТОДИКА 3

6 – ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ..... 4

10 – РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЙ..... 5

11 – КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДСТВА 5

1 – КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ

- *Neisseria*, грамм-отрицательные кокки, включающие 12 родов, некоторые из них принадлежат к ротоглоточной или урогенитальной симбиотической флоре. Среди них выделяют два патогенных для человека рода: *Neisseria meningitidis*, вызывающий цереброспинальный менингит, и *Neisseria gonorrhoeae*, вызывающий урогенитальные инфекции. Несвойственная локализация подтверждается точной бактериологической диагностикой. Другие виды могут вызывать глазные инфекции, инфекции органов дыхания или C.S.F. инфекции, особенно у людей с ослабленным иммунитетом.
- *Branhamella catarrhalis*, грамм-отрицательные кокки симбиотической флоры верхних путей дыхательного тракта, вызывающие ряд заболеваний верхних дыхательных путей.

2 – ПРИНЦИП ТЕСТА

Метод основан на использовании бактериальных ферментов, высушенных в виде субстрата на стенках микропланшета, которые вновь перерастворяются в бактериальном посевном материале во время исследования.

Выбираемые параметры:

а) Использование глюкозидов: глюкозы (GLU), мальтозы (MAL), фруктозы (FRU) и сахарозы (SAC), в окислительном процессе: окисление среды и изменение цвета фенола красного на желтый.

б) Определение β -галактозидазы (ONPG), гидролизом β -галактозидазы, которая высвобождает орто-нитрофенон желтого цвета.

с) Гидролиз трибутирина (TRI) под воздействием липазы, которая высвобождает масляную кислоту, в результате чего среда становится кислой и ее цвет окрашивается в желтый цвет.

д) Синтез полисахаридов (PS/24 ч): присутствие полисахаридов приводит к изменению среды с фиолетового на коричневый после добавления одной или двух таблеток Люголя. Это единственный тест, в котором инкубацию необходимо проводить в течение 24 часов.

е) Определение γ -глутамилтрансферазы (gGT) гидролизом γ -глутамилпаранитроанилида, в результате чего выделяется паранитроанилид, имеющий желтый цвет.

ф) Восстановление нитратов в нитриты (NO_3), осуществляется добавлением реагента Грейса.

д) Восстановление нитритов (NO_2 (1)) (NO_2 (2)): действие нитрит-редуктазы вызывает окрашивание раствора в желтый цвет.

Эти параметры позволяют установить биохимическую идентификацию, специфичную для каждого вида.

3 – КОМПЛЕКТ – ХРАНЕНИЕ – СРОК ГОДНОСТИ

- **Комплект:**

Микропланшет включает 2 ряда по 8 лунок, из которых 12 используются.

Каждая лунка соответствует биохимическому параметру, за исключением:

- Первая лунка (CONT NEG): отрицательный контроль, позволяющий зафиксировать изменение окрашивания сахара. (Изменение цвета pH-индикатора означает закисление среды, возможно из-за использования некоторых глюкозидов).
- (NO_2 (1)): засевают посевной материал, затем переносят в лунку (NO_2 (2)), в которой осуществляется реакция. Крышка используется для предотвращения выпаривания во время инкубации, при газовых реакциях.

Обозначения микропланшета

NEISSERIA 4H							
CONT NEG.	GLU	MAL	FRU	SAC	ONPG	TRI	PS
gGT	NO ₃	NO ₂	NO ₂				
		(1)	(2)				

Patient:

LOT

 Bio-Rad

Ref.:

 880343

- **Хранение:** при +2-8°C.
- **Пригодность:** срок годности указан на упаковке.

4 – СОСТАВ КОМПЛЕКТА

- 10 микропланшетов + 10 крышек (отдельно упакованных)
- 10 ампул с суспензионной средой
- 10 одноразовых дозированных микропипеток
- 10 полосок для фиксирования результатов

5 – МЕТОДИКА**А. Необходимые, но не поставляемые материалы**

- Пробирка, № 3 по шкале мутности Mac Farland (0,3 мл 1% BaCl₂ и 9,7 мл 1% H₂SO₄)
- Реагент Грейса: Нитриты 1 / Нитриты 2 (код 53912)
- Реагент Люголя
- Термостат (инкубатор) при 37°C
- Дезинфицирующий раствор

Б. Проведение анализа**1) Приготовление посевного материала**

Посевной материал берется из чистых и свежих колоний, подращенных на обогащенной среде, адаптированной для культуры *Neisseria* (с или без специальной смеси, адаптированной для конкретного вида).

Предварительно необходимо проверить следующее:

- Окраска по Грамму: диплококки, Грамм отрицательные
- Присутствие цитохром оксидазы или каталазы

Используйте Пастеровские пипетки для сбора ряда колоний, достаточных для получения из суспензионной среды (при комнатной температуре, + 18-30°C). Мутность должна быть эквивалентна, по крайней мере, № 3 по шкале Mac Farland.

ЗАМЕЧАНИЯ:

- Вследствие недолговечности бактерий этих видов, посев должен быть произведен не позднее чем через 15 минут после приготовления посевного материала.
- Посевной материал должен рассматриваться как потенциально инфекционный: основное требование – работа вблизи пламени от Bunsen горелки. Дезинфицирующий раствор должен всегда быть рядом с рабочим местом.

2) Засев микропланшета

- Внесите упаковку с микропланшетами в помещение, при этом температура должна находиться в интервале: + 18-30°C.
- Откройте упаковку и выньте микропланшет.
- На ярлыке укажите от какого пациента получена проба или же вид изолята.
- Микропипеткой внесите по **три капли** (100 мкл) в каждую лунку, включая (NO₂ (1)) лунку.
- С помощью Пастеровской пипетки немедленно перемешайте содержимое этой лунки несколько раз до полного растворения субстрата, и перенесите его в лунку (NO₂ (2)). Конечный результат будет определяться в этой лунке.
- Накройте микропланшет крышкой.
- Поместите микропланшет в инкубатор при 37°C на 4 часа **без CO₂**.
- Выбросьте ампулу и пипетку в контейнер для контаминированных отходов (которые должны быть автоклавированы).

3) Снятие показаний

Снятие показаний осуществляется после окончания 4 часовой инкубации (за исключением лунки, названной «Синтез полисахаридов», в которой для проведения реакции необходимо 24 часа).

На ярлыке микропланшета подпишите полученные результаты (+) или (-), в соответствии с признаками, приведенными в таблице 1.

Таблица 1

ТЕСТЫ	Время инкубации	РЕЗУЛЬТАТЫ	
		ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЕ	ОТРИЦАТЕЛЬНЫЕ
Глюкоза (GLU) Мальтоза (MAL) Фруктоза (FRU) Сахароза (SAC)	4 часа 4 часа 4 часа 4 часа	Окрашивание – желтого или оранжевого цвета соответствует большей кислотности, чем у отрицательного контроля	Окрашивание – красного или фиолетового цвета соответствует щелочной среде (или, если pH эквивалентна pH отрицательного контроля)
ONPG *	4 часа	желтый	бесцветный
Трибутирин (TRI)	4 часа	желтый или оранжевый	красный или фиолетовый
Синтез полисахаридов **	24 часа	фиолетовый или коричневый	желтый
gGT	4 часа	желтый	бесцветный
NO ₃ ***	4 часа	красный	бесцветный
NO ₂ ****	4 часа	желтый	бесцветный или серый

Изменение окрашивания сахаров

Оценку изменения окрашивания растворов при гидролизе глицидов всегда необходимо проводить **в сравнении с окраской контрольной лунки**. Так как некоторые виды имеют низкую кислотность, то изменение окраски индикатора может быть едва заметной (оранжевой). Это свойственно некоторым видам сапрофитов: *N. subflava*, *N. flava*. Окрашивание, соответствующее кислотности, большей, чем у отрицательного контроля: имеет желтый или оранжевый цвет.

* **ONPG**: реакция быстротечна и окрашивание очень часто появляется уже на десятой минуте.

** **Синтез полисахаридов**: оценка результата может проводиться после добавления одной или двух капель Lugol. Иногда изменение цвета реакционной смеси наблюдается через 4 часа. Положительный результат может наблюдаться появлением окрашенной сетки (цветовая гамма в среде – от фиолетовой к коричневой, иногда ограничена по периферии лунки).

*** **Восстановление нитратов**: оценка этого параметра может проводиться лишь в конце исследований, после добавления Griess' reagentов. Так как эти реагенты являются кислотами, то они могут вызвать обесцвечивание растворов в соседних лунках.

**** **Желтое окрашивание** (указывает на наличие нитратной редуктазы) может обесцвечиваться со временем под воздействием света. Поэтому рекомендуется считывать результаты непосредственно после вынимания микропланшета из инкубатора.

6 – ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Полученные результаты (помеченные на ярлыке микропланшета) необходимо перенести на результирующую полосу и интерпретировать в соответствии с табл. 2.

ВИДЫ	Гидролиз глицидов				ONPG	Три-бути-рин	gGT	Восстановле-ние		Синтез поли-сахаридов 24 часа	Рост на селек-тивной среде	Пиг-мен-тация колоний
	GLU	MAL	FRU	SAC				нит-ратов NO ₃	нит-ритов NO ₂			
N.gonorrhoeae	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
N.meningitidis	+	+	-	-	-	-	+	-	(-)	-	+	-
N.lactamica	+	+	-	-	+	-	-	-	(+)	-	+	+
N.polysaccharea	+	+	-	±	-	-	-	-	+	+	+	+
N.mucosa	+	+	+	+	-	-	±	+	+	+	-	±
N.subflava												
biovar subflava	+	+	-	-	-	-	±	-	+	-	-	++
biovar flava	+	+	+	-	-	-	±	-	+	-	-	++
biovar perflava	+	+	+	+	-	-	±	-	+	+	-	++
N.sicca	+	+	+	+	-	-	±	-	+	+	-	-
N.denitrificans	+	-	+	+	-	-	-	-	+	+	-	-
B.catarrhalis	-	-	-	-	-	+	-	+	(+)	-	-	-

±: может изменяться в зависимости от штамма
NO₂: результаты получены при 0,1 % концентрации нитритов
(-): для большинства штаммов характерно данное значение параметра
При необходимости, инкубируйте микропланшет снова в течение 24 часов для подтверждения синтеза полисахаридов.
Если полученные в ходе исследования значения параметров не классифицируются по таблице 2, проверьте чистоту штамма и специфические характеристики для Neisseria и Branhamella родов:
Грамм (-), Оксидаса (+) диплококки.

10 – РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЙ

Оценку NEISSERIA 4H проводили на 147 Neisseria и Branhamella образцах. Все результаты были подтверждены обычными и иммунологическими методами.

Виды	Количество исследованных образцов	Количество идентифицированных образцов
N. gonorrhoeae	82	82
N. meningitides	29	29
B. catarrhalis	22	22
N. perflava	7	5
N. flava	3	2
N. subflava	1	1
N. mucosa	2	2
N. lactamica	1	1

У двух штаммов N. perflava и одного штамма N. flava были получены отрицательные результаты по карбоногидратным тестам (глюкозе и сахарозе). Использование твердых питательных сред позволяет скорректировать идентификацию 2 штаммов N. perflava.

11 – КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДСТВА

Все производственные реагенты, начиная со стадии получения неочищенных материалов и до последней стадии получения готового продукта, производят в должных условиях. Каждая серия подвергается качественному контролю и в продажу поступают только те образцы, которые имеют допустимые показатели критериев. Данные относительно производства и контроля каждой серии хранятся в нашей компании (Bio-Rad).

Адрес московского Представительства:
БИО-РАД ЛАБОРАТОРИИ
125167, Москва, Ленинградский пр., д.37А, корп.14
тел: (095) 721 14 04, факс: (095) 721 14 12

Bio-Rad Laboratories

Дип-слайды для выявления уропатогенов

IVD

1. Сфера применения

Культуральный метод диагностики инфекций мочевыводящих путей с помощью дип-слайдов.

2. Фасовка

10 слайдов для исследования 10 клинических образцов

3. Принцип

На поверхность ДГУ дип-слайдов нанесено два питательных агара. С одной стороны пластиковый слайд покрыт зеленым КЛЕД-агаром, с другой стороны красно-коричневым агаром МакКонки для обнаружения микроорганизмов, вызывающих инфекции мочевыводящих путей. КЛЕД-агар предназначен для подсчета общего микробного числа. На среде МакКонки соли желчи предотвращают рост всех Грам «+» бактерий кроме энтерококков, растущих в виде колоний размером с булавочную головку. На этой среде также растут Грам «-» бактерии.

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

КЛЕД-агар		Агар МакКонки	
Пептон	10	Пептон	20
Мясной экстракт	3	Лактоза	10
Лактоза	10	Нейтральный	0,075
		красный	
Л-цистеин	0,13	Соли желчи	0,8
Бромтимоловый	0,03		
синий			

Предупреждения

Дип-слайды ДГУ предназначен только для *in vitro* диагностики. Не использовать продукт после истечения срока годности, указанного на упаковке. Не использовать дип-слайды, если имеются обесцвеченные или подсохшие участки агара, отделение среды от пластиковой основы слайда или следы бактериального или фунгиального пророста. Поскольку любые колонии, появившиеся на поверхности агара, являются патогенными или условно

патогенными, не прикасаться к поверхности слайда.

5. Хранение

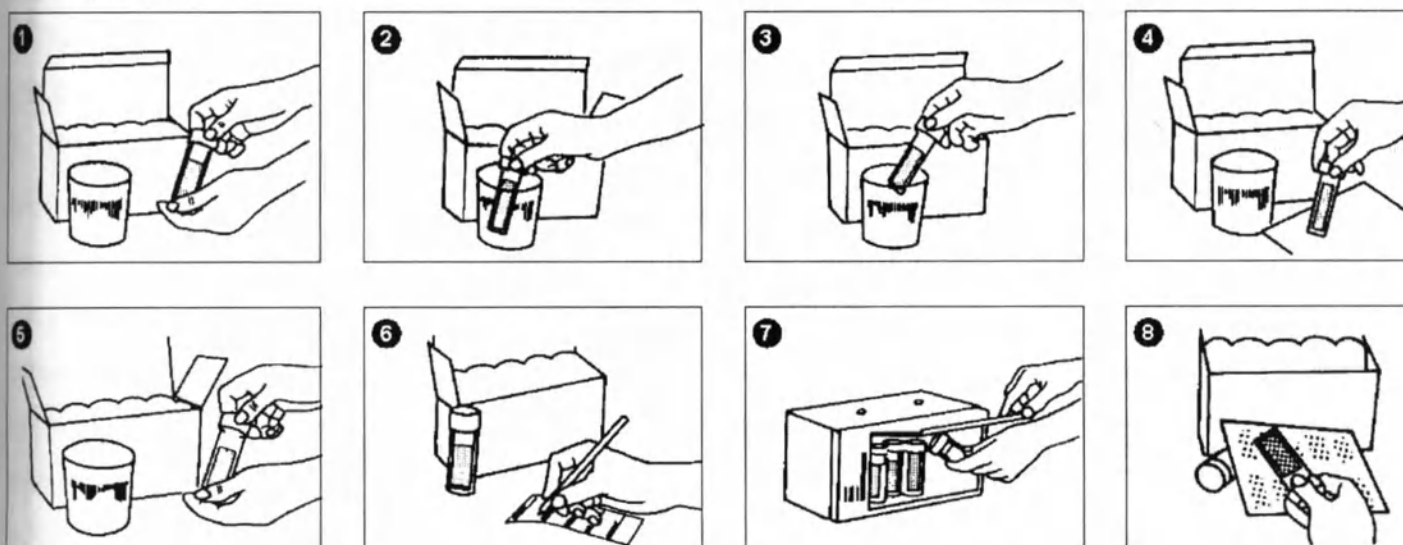
Дип-слайды ДГУ хранить при температуре 15...25°C, в защищенном от света и колебаний температуры месте. Избегать сквозняков и не хранить продукт вблизи источников тепла. НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ. Срок годности указан на упаковке.

6. Отбор проб мочи и их хранение

Для культурального исследования идеально подходит моча, полученная из мочевого пузыря, накопленная в течение 4 часов перед ее отбором. Отбирать образцы допускается при мочеиспускании (средняя неконтаминированная порция мочи), катетеризации или надлобковой пункции. Образец мочи необходимо инокулировать на дип-слайд непосредственно после отбора. После инокуляции дип-слайд немедленно поместить в защитный контейнер и плотно закрыть. Если образец мочи будет храниться перед инокуляцией какое-то время, держать его при температуре 2...8°C не более чем 24 ч.

На результат культивирования дип-слайда может оказывать влияние прием пациентом антибиотиков. Не проводить исследование ранее чем через 48 ч окончания курса антибиотикотерапии.

7. Методика

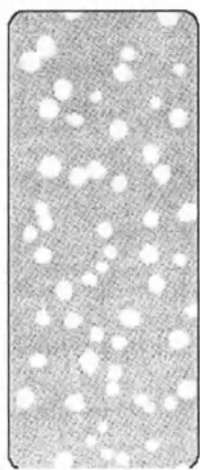


1. Открутить слайд, достать из контейнера, не прикасаясь к поверхности агара.
2. Удерживая дип-слайд за крышку, погрузить его в свежую среднюю порцию мочи так, чтобы все поверхность агара смочилась. Если объем образца слишком мал, чтобы смочить весь слайд, инокулировать поверхность агара путем выливания на него образца и последующим наклонением из стороны в сторону до полного смачивания поверхности.
3. Дождаться стекания излишков мочи со слайда.
4. Последнюю каплю снять фильтровальной бумагой.

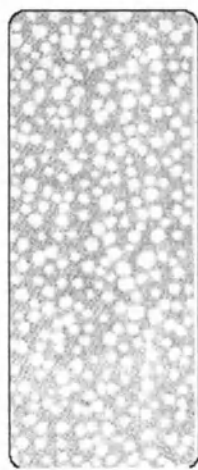
5. Плотнo закрутить слайд в контейнер.
6. Записать на этикетке информацию о пациенте.
7. Поместить контейнер в инкубатор при температуре ($36\pm 2^{\circ}\text{C}$) на 16–24 ч. Контейнер можно оттранспортировать в лабораторию для инкубирования.
8. Для определения микробного числа (КОЕ/мл) достать дип-слайд из контейнера и сравнить плотность роста с плотностью, указанной на схеме ниже.



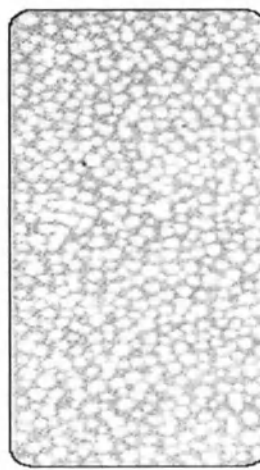
1 000



10 000



100 000



1 000 000



10 000 000

Справка:

1. При отрицательном результате культивирования можно продолжить инкубацию, чтобы убедиться в отсутствии роста медленно растущих изолятов.
2. Инокулированные слайды немедленно помещать в инкубатор, в условия для хранения или транспортировать в лабораторию для инкубирования и интерпретации. Хранить и транспортировать при температуре $7\ldots 25^{\circ}\text{C}$ не более 48 ч, после чего дип-слайд инкубировать при температуре $36\pm 2^{\circ}\text{C}$ в течение 16–24 ч. Если дип-слайд хранили или транспортировали более чем 48 ч, можно только оценивать наличие или отсутствие роста и подсчитывать микробное число; цветные реакции учитывать нельзя, они могут быть атипичны.
3. Инокулированный слайд можно хранить при комнатной температуре в течение 1–3 дней, после чего положительную культуру можно отослать в специализированную лабораторию для последующей идентификации. Отрицательные культуры можно инкубировать в течение еще 24 ч для обнаружения медленно растущих бактерий.

8. Интерпретация результатов

После инкубирования инокулированного дип-слайда присутствие бактерий проявляется присутствием колоний на поверхности агара. Поскольку колония является результатом деления одной бактериальной клетки, то количество колоний соответствует количеству

микроорганизмов в образце, выраженное в колониеобразующих единицах в мл. Подсчет колоний проводить на изначально зеленом КЛЕД-агаре путем поиска на схеме модели соответствующей по плотности колоний исследуемому дип-слайду, но не из размеру. Низкая концентрация электролитов в КЛЕД-агаре предотвращает роение штаммов рода *Proteus*. Бромтимоловый синий и лактоза в среде позволяют обнаруживать лактозоферментирующие бактерии. Такие лактозопозитивные штаммы растут на среде в виде желтых колоний и прокрашивают среду вокруг себя в желтый цвет, в то время как лактозонегативные колонии растут прозрачными и не изменяют цвет среды вокруг себя. Селективный агар МакКонки, изначально имеет красно-коричневый цвет, на нем растут не только Грам «-» бактерии, но и энтерококки в виде колоний с булабочную головку.

Селективность среды обеспечивается добавлением солей желчи. На этой среде лактозопозитивные бактерии растут в виде красных, а лактозонегативные в виде прозрачных колоний. Если концентрация бактерии в моче высока (более ($> 10^7$ КОЕ/мл), на поверхности агар может наблюдаться сливной рост. Такой рост может быть оценен как негативный результат. Поэтому поверхность агара, на которой не отмечается роста отдельных колоний необходимо изучать в отраженном свете; отсутствие отражения свидетельствует о сливном росте. Яркий свет позволяет обнаруживать даже мелкие колонии. Смесь различных бактериальных штаммов на дип-слайде чаще всего свидетельствует о контаминации образца мочи.

9. Ожидаемые значения

Следующие значения основаны на рекомендациях ECLM-EUG European Urinalysis Guidelines (2000).

Метод отбора, клиническая картина	Диагностически значимая концентрация (КОЕ/мл)
Средняя порция, предыдущее мочеиспускании менее чем за 4 ч, симптомы воспаления	$> 10^3$
Средняя порция, предыдущее мочеиспускании более чем за 4 ч	10^{4-5}
Катетер у мужчин	$> 10^3$
Катетер у женщин	$> 10^4$
Бессимптомная бактериурия	$> 10^5$
Пункция	Любая концентрация

Справка:

В некоторых случаях клинически значимой в моче, полученной при мочеиспускании менее чем через 4 ч после предыдущего мочеиспускания, является концентрация менее 10^3 КОЕ/мл.

10. Ограничения метода

Дип-слайды позволяют обнаруживать бактерии в концентрации 10^3 и 10^7 КОЕ/мл. Концентрация бактерий определяется путем сравнения со схемой с точностью кратной 10. При соблюдении инструкции концентрация колоний, определенная таким методом, на 99 % коррелирует с обычным подсчетом на чашке Петри.

11. Характеристики КЛЕД-агара

Arnell, G.C. 1970: Detection of bacteriuria at room temperature. Lancet, January 17, pp 119–121⁶.

Количество образцов: 140

Чувствительность 100 %

Специфичность 99 %

Сходимость по положительным образцам 98 %

Сходимость по отрицательным образцам 100 %

Референсный метод – посев на чашку Петри с питательным агаром

11. Контроль качества

Тест контроля качества производитель выполнял на каждом лоте дип-слайдов ДГУ. В случае проведения тестирования качества дип-слайдов рекомендуется использовать следующую процедуру:

1. Приготовить суспензию следующих штаммов бактерий в стерильном физиологическом растворе 10^5 – 10^6 бактерий в мл: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 *Proteus mirabilis* ATCC 12453

2. Инокулировать ДИП-слайд, следуя инструкции по применению.

3. Интерпретировать результаты через 16–24 ч инкубации по следующим правилам:

***St. aureus* ATCC 25923:** Рост колоний только на КЛЕД-агаре. Колонии ферментируют лактозу и окрашиваются в желтый цвет с переходом окрашивания в агар.

***E. coli* ATCC 25922:** Рост желтых колоний с переходом окрашивания в КЛЕД-агаре и розово-красных колоний на агаре МакКонки.

***P. mirabilis* ATCC 12453:** Рост прозрачных колоний с голубым оттенком на КЛЕД-агаре и бесцветные колонии на агаре МакКонки.

12. Утилизация

Использованные дип-слайды утилизировать сжиганием, автоклавированием или погружением в раствор дезинфектанта в соответствии с местными законодательными актами.

13. Список литературы

1. McAllister TA, Arnell GC, Barr W, Kay P: Assessment of 4. NCCLS Publication M22-A: Quality Assurance Standardsplain dipslide quantitation of bacteriuria. Nephron 11: 111– for Commercially

Prepared Microbiological Culture Media; 122, 1973 Approved standard. Volume 10: 14, 1990

Kass EH: Bacteriuria and the diagnosis of infections of the urinary tract. Archives of Internal Medicine 100: 709–Lancet, January 17: 119–121, 1970 714, 1957 6. Granato PA: Evaluation of a dip slide device for enumeration of bacteria in urine. Laboratory Medicine Vol. 11, No 4: 246– of the urinary tract in general practice by means of a250, 1980 dip- inoculum transport medium. British Medical Journal 2:1286–1288, 1965

добавка для изолирования требовательных бактерий

IVD

1-Назначение

Поливитаминная добавка для основы шоколадного агара. Содержит факторы роста, необходимые для требовательных бактерий.

2- Фасовка

- Добавка P.V.S. (лиофилизированная)
- 6 ампул (на 1 мл)

3-Состав (г/л)

Хлорид цистеина	43.17
L-цистин	1.83
Гуанин гидрохлорид	0.05
Тиамин гидрохлорид	0.005
Кокарбоксилаза	0.17
НАД	0.42
Парааминобензойная кислота	0.022
Аденин	1.67
L.-глутамин	16.67
Витамин B12	0.0167

4- Хранение

- +2-8°C.
- Срок годности указан на упаковке.

5- Инструкция

Растворите содержимое ампулы в 1 мл дистиллированной воды. Содержимое ампулы достаточно для 100 мл среды.

6- Контроль качества

- слабо розовый лиофилизированный порошок..
- Ростовые качества проверены на следующих штаммах в течение 24-48 ч при 37°C:

Neisseria gonorrhoeae ATCC 19424 (инкубирование в CO₂) – Хороший рост

Neisseria meningitidis ATCC 13077(инкубирование в CO₂) – Хороший рост

Haemophilus influenzae CIP 52151 (инкубирование в CO₂) – Хороший рост

IVD

1. Сфера применения

Агар Сабуро с хлорамфениколом и актидионом предназначен для изолирования дерматофитов и других патогенных грибов из биологических образцов, особенно контаминированных другой бактериальной и грибной флорой.

2. Принцип

Присутствие хлорамфеникола ингибирует рост почти всей бактериальной флоры. Актидион ингибирует рост сапрофитных грибов и некоторых дрожжей (*Candida tropicalis*, *C. glabrata*, *Cryptococcus neoformans*), а также некоторых штаммов *Aspergillus* и *Fusarium*.

Среда рекомендована для изоляции дерматофитов (*Trichophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum*).

Агар Сабуро с хлорамфениколом и актидионом позволяет расти дрожжам рода *Candida* (особенно *C. albicans*), за исключением некоторых штаммов, таких как *C. tropicalis*, *C. glabrata*, рост которых ингибируется на этой среде.

Другие патогенные грибы, такие как *Sporothricum*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Coccidioides*, также могут расти на этой среде

3. Фасовка

Готовая к использованию: 6 флаконов по 100 мл (для разливания)

Кат. № 56559

Сухая среда: флакон 500 г

Кат. № 64634

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Агар приготовлен в соответствии с формулой С Европейской фармакопеи с добавлением хлорамфеникола и актидиона

Пептон	10
Глюкоза	40
Агар	12

Приготовление среды:

Гомогенизировать порошок в банке. Добавить 43 г сухой среды к 1 л стерильной дистиллированной воды. Подождать 5 минут, затем перемешать до получения гомогенной суспензии. Медленно нагреть, постоянно помешивая, довести до кипения до полного

растворения суспензии. Если необходимо, довести pH до 6,0. Стерилизовать автоклавированием при температуре 121°C в течение 20 минут, разлить по чашкам Петри.

5. Хранение

Готовая к использованию (до разлива по чашкам): при температуре +2-8°C.

Сухая: в плотно закрытой банке в сухом месте при температуре +15-25°C. Срок годности и номер лота указаны на упаковке.

Методика:

Поставляемые материалы: Агар Сабуро с хлорамфениколом и актидионом.

Инокуляция:

На агар Сабуро с хлорамфениколом и актидионом можно инокулировать все образцы. При хранении биологических образцов следовать регламентирующим документам.

Инкубация:

Температура и время инкубации зависят от характеристик и типа исследуемого гриба. Эти параметры определяет пользователь.

Температура:

Как правило, оптимальной температурой для обнаружения грибов в биологических образцах является 30-35°C. При целенаправленном исследовании на некоторые виды грибов рекомендуется применять различные температуры (25-27°C, 30-35°C).

Продолжительность:

Время инкубации зависит от типа образца и предполагаемого вида гриба. Общие правила приведены ниже.

Для всех образцов, исследуемых на наличие дрожжевых грибов (за исключением *C. neoformans*): инкубация от 24 до 72 с ежедневным осмотром культуры.

Для неповерхностных образцов инкубация в течение 1-2 недель с ежедневным осмотром культуры.

Культуры с покровов на наличие *Dermatophytes* требуют инкубации в течение 3-4 недель с осмотром два раза в неделю.

При подозрении на *C. neoformans* или диморфные грибы в спинно-мозговой жидкости или других образцах: инкубация в течение 1 месяца с ежедневным осмотром культуры.

Считывание-интерпретация:

После инкубации изучить рост микроорганизмов.

Идентифицировать гриб (грибы), изолированные с четко оформленных колоний: макроскопическое и микроскопическое исследование, биохимические тесты*, дополнительные тесты.

идентификацию колоний дрожжей (матовые белые, 1-2 мм в диаметре) можно выполнить на терее Ауксоколор® 2 (Кат. № 56513).

Внешний вид/ Контроль качества

Внешний вид готовой к использованию среды: агар янтарного цвета.

Внешний вид сухой среды: слабо окрашенный порошок.

Исходные характеристики агара Сабуро с хлорамфениколом и актидионом проверяли на следующих штаммах:

Штаммы	Условия инкубации	Результат
<i>Candida albicans</i> ATCC 26790	24-48 ч при температуре 30-35°C	Выраженный рост
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 750	24-48 ч при температуре 30-35°C	Выраженный рост
<i>Candida glabrata</i>	24-48 ч при температуре 30-35°C	Выраженный рост
<i>Trichophyton rubrum</i>	7 дней при температуре 30-35°C и 7 дней при температуре 20-25°C	Пушистая поверхность с красно-коричневым основанием
<i>Trichophyton violaceum</i>	7 дней при температуре 30-35°C и 7 дней при температуре 20-25°C	Выраженный рост, фиолетовый пигмент
<i>Trichophyton floccosum</i>	7 дней при температуре 30-35°C и 7 дней при температуре 20-25°C	Рыхлые с красно- коричневым основанием
<i>Microsporum canis</i>	7 дней при температуре 30-35°C и 7 дней при температуре 20-25°C	Выраженный рост, поверхность, похожая на замшу, оранжево-желтое основание
<i>Fusarium</i>	7 дней при температуре 30-35°C и 7 дней при температуре 20-25°C	Нет роста
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	24-48 ч при температуре 35-38°C	Нет роста
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	24-48 ч при температуре 35-38°C	Нет роста

Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-

Ограничения

Поскольку актидион ингибирует рост некоторых патогенных грибов, таких как *Candida tropicalis*, *C. albicans*, *Cryptococcus neoformans*, а также *Aspergillus*, рекомендуется инокулировать среду без актидиона параллельно.

Список литературы

Pharmacopée Européenne. Addendum 4.2 de la 4e édition. 2002.

Basic Laboratory Procedures Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.

Bio-Rad

1 boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33

CE

11/2003

IVD

1. Сфера применения

Добавка Джи предназначена для внесения в основу агара Нейссерия (Кат. № 69354). Она содержит факторы, необходимые для роста *Neisseria* и *Haemophilus*.

2. Фасовка

Готовая к использованию: 50 мл флакон

Кат. № 62692

3. Состав (г/л)

Сыворотка лошади	340 мл
Дрожжевой экстракт	200 мл
Экстракт эритроцитов	470 мл
Глюкоза	1,2
НАД	0,012

4. Хранение

Готовая среда: при +2-8°C в темном месте.

Срок годности и номер серии указан на упаковке.

5. Инструкции

В стерильных условиях добавьте 50 мл добавки Джи к 185 мл основы агара Нейссерия (Кат. № 69354), предварительно расплавленной на водяной бане и охлажденной до температуры в 45-50°C.

Смотри инструкцию к основе агара Нейссерия (Кат. № 69354).

6. Внешний вид/ контроль качества

Добавка Джи: прозрачная янтарного цвета.

Ростовые характеристики добавки Джи проверяли на следующих штаммах:

Штаммы	Результат культивирования при температуре 37°C в течение 24 - 48 ч в атмосфере CO2
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 19424	Хороший рост
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13077	Хороший рост

7. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».



Bio-Rad

1 boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax +33 (0) 1 47 41 91 33

CE

11/2003

**НАБОР YERSINIA
РЕАКЦИЯ АГЛЮТИНАЦИИ**

код продукта

63500

определение и титрование антител к иерсиниям

Состав набора:

- | | |
|---|----------------|
| • СИНЯЯ* бактериальная суспензия <i>Yersinia enterocolitica</i> , серотип 0:3 | 1 флакон 5 мл; |
| • ЗЕЛЁНАЯ* бактериальная суспензия <i>Yersinia enterocolitica</i> , серотип 0:9 | 1 флакон 5 мл; |
| • РОЗОВАЯ* бактериальная суспензия <i>Yersinia pseudotuberculosis</i> , тип I | 1 флакон 5 мл. |

*для облегчения работы с бактериальными суспензиями, они выкрашены разными цветами.

Серологические исследования широко используются для диагностики инфекций, известных в медицине как иерсиниозы, особенно на фоне некоторых заболеваний: ревматология, дерматология, реже сердечная и почечная недостаточность.

Этот серодиагностикум выполняется по крайней мере на двух образцах сыворотки, взятых с интервалом в 15 дней и повышении титра антител является результатом инфекции.

ПРИНЦИП МЕТОДА

Набор YERSINIA основан на реакции агглютинации в пробирке. Получаемый результат является качественным и количественным.

- разведения исследуемой сыворотки, смешиваемой с фиксированным объёмом антигена (суспензия инактивированных бактерий)
- любые специфические антитела, присутствующие в исследуемой сыворотке, связываются с антигенами и формируют агглютинат, видимый невооружённым взглядом.

Титр сыворотки определяется наивысшим разведением при котором происходит агглютинация.

НЕОБХОДИМЫЕ МАТЕРИАЛЫ (не поставляются)

- гемолизные пробирки (13 мм × 75 мм)
- штатив для пробирок

*Bio-Rad Laboratories**Страница 1*

- дозатор с одноразовыми наконечниками
- водяная баня (37°C ± 2°C)
- нормальный солевой раствор (0.9%)или фосфатный буфер (pH 7.2)

МЕТОДИКА ВЫПОЛНЕНИЯ АНАЛИЗА

Выявление и титровка анти-Yersinia антител выполняется на сыворотке (не используйте плазму).

1. Разведите тестируемую сыворотку 1/5 в 0.9% нормальном солевом растворе или в фосфатном буфере (pH 7.2): 0.1 мл сыворотки смешайте с 0.4 мл растворителя.
2. Используя уже разведённую 1/5 сыворотку, приготовьте в гемолизных пробирках три серии разведений (одна серия тестируется со всеми бактериальными суспензиями):
 - для качественного анализа достаточно два разведения 1/100 и 1/200 [1]: пробирки № 2 и № 3 в таблице;
 - для титрования необходимо минимум пять разведений от 1/100 до 1/1600 [2]: пробирки № 2 - № 6 в таблице.

[1] разведение 1/200 является достаточным для положительной сыворотки

[2] шаг разведений установлен на основе клинических исследований

3. Внесите фиксированный объём (50 мкл) суспензии антигена в каждую пробирку (использовать одну суспензию для всех серий).

Пример распределения реагентов для ОДНОЙ БАКТЕРИАЛЬНОЙ СУСПЕНЗИИ

Примечание:

- Перед использованием пробирки с бактериальной суспензией необходимо выдержать при комнатной температуре. Встряхните пробирки для однородного смешивания содержимого.
- Проверьте одну пробирку с бактериальной суспензией (№1 в таблице) на предмет автоагглютинации путём визуального сравнения с отрицательным контролем.
- Смешайте сыворотки и антигены методом встряхивания пробирок и инкубируйте при 37°C в течении 24 часов.

№пробирки Реагент	1	2	3	4	5	6
Растворитель сыворотки*	1 мл	1,9мл +	1 мл +	1 мл +	1 мл +	1 мл +
Исследуемая сыворотка (разведенная 1/5)	-	0,1 мл	1мл	1мл	1мл	1мл
Разведения сыворотки		1/100	1/200	1/400	1/800	1/1200
Антиген	50мкл	50мкл	50мкл	50мкл	50мкл	50мкл

* 0.9% нормальный солевой раствор или в фосфатный буфер (pH 7.2)

ЦЕНТРИФУГИРОВАНИЕ

Для получения быстрого результата при исследовании одной и той же сыворотки и антигенной суспензии, выполните методику в следующей последовательности:

- инкубируйте в водяной бане при 37⁰С в течение 2-х часов.
- центрифугируйте пробирки при 800 g.
- ресуспензируйте осадок и исследуйте его.

Однако, при таком методе агглютинация менее выражена, вследствие чего сомнительные результаты необходимо подтвердить дополнительным инкубированием при 37⁰С в течение 24 часов.

Замечание:

Рекомендуется периодически проверять специфичность бактериальных суспензий. Для этого необходимо смешать бактериальные суспензии со специфическими иммунными сыворотками. Для этого используйте 3 титрованные положительные сыворотки (код 63505). Они готовы для использования (предварительно растворите их 1 к 5). Работайте с ними по той же методике, по которой исследуются сыворотки пациентов (одинаковое растворение, одинаковое смешиваемое количество антигенной суспензии). Вернитесь к соответствующей информации на этой странице.

РЕЗУЛЬТАТЫ: АНАЛИЗИРОВАНИЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ

- Положительный результат включает появление агглютинации, видимой невооруженным глазом.
- Титр сыворотки определяется последним разбавлением сыворотки, при котором наблюдалась агглютинация бактерий.
 - Титр равный 1/200 или выше, означает наличие *Yersinia enterocolitica* и *Yersinia pseudotuberculosis* инфекции. Более низкие титры свидетельствуют об обратном.
 - Заключение можно сделать только при сравнении титров двух образцов сыворотки, взятых с интервалом в 15 дней.
- При выраженном проявлении клинических симптомов, например, боль в подвздошной яме, отмечаются высокие титры. В этом случае рекомендуется первично проверить присутствие антител посредством «скользящего» теста:
 - 2 капли антигена + 1 капля сыворотки.

Если агглютинация появляется через одну минуту, то для проведения исследования следует разбавить сыворотку 1 к 12800 (для снижения прозонового эффекта).

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

- Для подтверждения качества полученного результата используются 3 положительные контрольные сыворотки.
- Отрицательный контроль, полученный смешиванием растворителя с антигеном, показывает неагглютинирующее свойство суспензии.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Поскольку антигенная суспензия специфична, то перекрестная реакция с другими Грамм отрицательными бактериями наблюдается достаточно редко. Тем не менее, неспецифичная агглютинация может выявляться для *Y. enterocolitica* в сыворотках, содержащих анти-*Brucella* или анти-*Francisella tularensis* антитела.

Хранение набора:

+ 2-8°C до окончания срока годности

Срок годности и номер партии указаны на упаковке.

Литература

1. AHNOVEN P. Human yersiniosis in Finland. I. Bacteriology and serology. Ann. Clin. Res., 1972, 4, 30-38.
2. KAWAOKA Y., MITANI T., HOSSHINA K, PTSUKI K. and TSUBOKURA M. Lack of correlation between haemagglutination and adherence to epithelial cells in *Yersinia pseudotuberculosis*. J. Med. Microbiol., 1988, 25, 175-181.
3. TOIVANEN A., LAHESMAA-RANTALA R., VUENTO R. and GRANFORS K. Association of persisting IgG response with *Yersinia* triggered reactive arthritis: a study on 104 patients. Ann. Rheum. Dis., 1987, 46, 898-901.
4. VANDEPITTE J. *Yersinia enterocolitica*. Tijdsch. Van de BVL, 1980, 7, 151-161.
5. WENZEL B.E., HEESEMANN J., WENZEL K.W. and SCRIBA P.C. Patients with autoimmune thyroid diseases have antibodies to plasmid encoded proteins of enteropathogenic *Yersinia*. J. Endocrinol., 1998, 11, 139-140.
6. WINBLAD S. Immune response to *Yersinia* and *Pasteurella*. Contr. Microbiol. Immunol., 1980, 2, 474-478.

Селективная среда для изолирования *Campylobacter*

IVD

1. Сфера применения

Агар Бацлера используют для селективного изолирования *C. jejuni* и *C. coli* из образцов стула при диарее (данные бактерии часто являются причиной бактериального гастроэнтерита).

2. Принцип

Селективность среды основана на присутствии в среде смеси антибактериальных и антифунгиальных препаратов, ингибирующих рост ассоциированной флоры (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*, *Staphylococci*, *enterococci*, дрожжи).

Селективная смесь:

- Цефоперазон и колистин ингибируют большую часть Грам (-) бактерий; также ингибируется рост *Pseudomonas* и некоторых штаммов *Enterobacteriaceae*, обычно устойчивых к антибиотикам (*Proteus*, *Serratia*, *Citrobacter*).

- Рифампицин ингибирует рост Грам (+) бактерий.

- Амфотерицин В ингибирует рост большинства дрожжевых грибов.

Рост *Campylobacter* стимулируется присутствием в среде крови барана.

3. Фасовка

• Готовая к использованию среда: коробка 10 чашек Петри 90 мм Кат. № 63514
(маркировка BUTZ)

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Основа кровяного агара:

Смесь пептонов	16
Мясной экстракт	2,5
Дрожжевой экстракт	2,5
Хлорид натрия	5
Агар	14

Селективная добавка (цефоперазон, рифампицин, амфотерицин В, колистин)

5 % стерильной крови барана

5. Хранение

• Готовая к использованию среда: при температуре +2-8°C.Срок годности и номер лота указаны на упаковке.

6. Методика:

• Поставляемый материал: Агар Бацлера.

Инокуляция:

Твердые или жидкие каловые массы инокулировать непосредственно на чашку; прекультивирование в обогатительной среде не требуется. Микроскопическая картина при исследовании каловых масс при кампилобактерном гастроэнтерите весьма характерна: нарушение нормального соотношения бактериальной микрофлоры, которая замещена большим количеством *Campylobacter* с очень типичной морфологией и подвижностью (так называемые буравчики или полеты ласточек). Правила хранения клинического материала описаны в действующих рекомендациях.

Инкубация:

Инкубировать в течение 48 ч при температуре 35-37°C в микроаэрофильной атмосфере. При отсутствии роста через 48 ч, продолжать культивирование в течение 5 суток с ежедневным осмотром агара.

N.B.: Инкубирование при температуре 42°C усиливает селективный эффект при выращивании термофильного *Campylobacter* (*C. coli* и *C. jejuni*).

Считывание:

Внешний вид колоний:

- через 24 ч: очень мелкие с булавочную головку колонии.
- через 48 ч: крупные выпуклые блестящие или наоборот очень плоские колонии с характерным ростом вокруг инокуляционного штриха.

Окрашивание колоний по Граму:

- Через 24-48ч инкубирования: Грам (-) бактерии в форме запятой, S-образные или в виде коротких спиралей.
- Более старые культуры: коккообразные бактерии с слабо выраженной Грам(-) окраской, с трудом поддающиеся субкультивированию.

Биохимическая идентификация колоний	C. JEJUNI	C. COLI	C. FETUS
Каталаза	+	+	+
Оксидаза	+	+	+
Культивирование при 25°C	-	-	+
Культивирование при 37°C	++	++	+
Культивирование при 42°C	+++	+++	V
Гидролиз гиппурата (1)	+	-	-

Чувствительность к налидиксовой кислоте (2)	S	S	R
---	---	---	---

- V – непостоянный признак
- (1) Тест выполняли на плотной суспензии в 0,4 мл 1 % гиппурата натрия в фосфатном буфере через 2 часа инкубации при температуре 37°C. Окрашивали раствор добавлением свежеприготовленного 3,5 % раствора нингидрида в смеси бутанол/ацетон (50/50); положительная реакция проявляется появлением фиолетового окрашивания менее чем за 10 минут.
- (2) Дisko-диффузионный метод с использованием диска с нагрузкой 30 мкг и инокулюмом 10⁷ бактерий в мл.

7. Характеристики/ контроль качества

- Внешний вид готовой к использованию среды: агар красного цвета
- Ростовые характеристики агара Бацлера проверяли на следующих штаммах:

Штаммы	Результаты культивирования в течение 48 ч при температуре 35-37°C
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Нет роста
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Нет роста
<i>Candida albicans</i> ATCC 2091	Нет роста
<i>Campylobacter jejuni</i>	Выраженный рост
<i>Campylobacter coli</i>	Выраженный рост

8. Контроль качества производителя
- Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».
9. Ограничения
- Некоторые штаммы, например такой как *Campylobacter fetus* и его подвиды, могут не расти на этой среде из-за особенных питательных потребностей.
 - Некоторые штаммы *Enterobacteriaceae* могут не полностью ингибироваться.
 - Ингибиторный эффект снижается при использовании повышенного количества бактерий в инокулюме.
 - Для идентификации изолированных штаммов использовать дополнительные метода.

10. Список литературы

1. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization, Geneva. 1991. 1st edition

2. BUTZLER J.P., DEKEYSER P., DETRAIN M., DEHAEN F. 1973. J. Pediat **82** : p. 493

3. LAUWERS, S., DE BOECK, M., BUTZLER J.P. 1978. Lancet **1** : p. 604-605.

IVD

1. Сфера применения

Агар Йерсиния Цин (цефсулодин-иргазин-новобиоцин) позволяет селективно изолировать *Yersinia enterocolitica*.

2. Принцип

Селективность этой среды основана на присутствии кристал виолета, иргазина, солей желчи (ингибируют Грам «+» бактерии), цефсулодин и новобиоцин (ингибируют Грам «-» бактерии). Дифференциация *Yersinia enterocolitica* основана на ее способности ферментировать маннитол. Эта ферментация вызывает закисление среды, обуславливающее окрашивание центра колонии в красный цвет в присутствии индикатора нейтрального красного (pH индикатор). Это закисление также вызывает формирование зоны преципитации солей желчи вокруг колонии.

3. Фасовка

Готовая к использованию среда: Йерсиния Цинн 10 чашек Петри 90 мм Кат. № 63519 (маркировка **CIN**)

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Агар Йерсиния Цинн приготовлен по формуле, описанной Schiemann et al.

Мясной пептон	17
Казеиновый пептон	3
Цефсулодин	15 мкг
Дрожжевой экстракт	2
Иргазин	4 мкг
Маннитол	20
Новобиоцин	2,5 мкг
Пируват натрия	2
Хлорид натрия	1
Сульфат магния	0,01
Смесь солей желчи	1
Нейтральный красный	0,03

Кристалл виолет	0,001
Агар	13,5

5. Хранение

• Готовая к использованию среда: при температуре +2-8°C. Срок годности и номер лота указаны на упаковке.

6. Методика:

• Поставляемый материал: агар Йерсиния Цин.

Инокуляция:

Инокулировать штрихом непосредственно из исследуемого клинического материала (суспензия стула) или из обогатительной среды. При хранении биологических образцов руководствоваться действующими рекомендациями.

Инкубация:

Инкубировать в течение 24 ч при температуре 25-29°C (оптимальная температура: 29°C).

Считывание:

Через 24 ч: гладкие колонии с красным центром и прозрачными краями (с формированием розетки), мелкие (диаметр 1...1,5 мм).

Через 48 ч: гало преципитатов солей желчи может формироваться вокруг мутной колонии. Размер и вид колонии может быть похож на *Enterobacteriaceae*. *Aeromonas* и *Pseudomonas* формируют более крупные розовые колонии.

7. Внешний вид/ контроль качества

- Внешний вид готовой к использованию среды: оранжево-розовый прозрачный агар.
- Ростовые характеристики агара Йерсиния Цинн проверяли на следующих штаммах:

Штаммы	Результаты культивирования через 24 ч при температуре от 25°C до 29°C
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Нет роста
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Нет роста
<i>Yersinia enterocolitica</i> ATCC 23715	Колонии с красным центром и прозрачными краями
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Нет роста

8. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

9. Ограничения

- Селективность среды лишь частичная, часть Грам «-» бактерий могут расти на этой среде. Некоторые представители семейства Enterobacteriaceae, способные утилизировать маннитол, такие как *Enterobacter*, *Citrobacter* и *Serratia*, формируют розовые колонии. Их можно перепутать с *Yersinia*. Окончательная идентификация до вида необходима.
- Присутствие уреазы, отсутствие триптофан дезаминазы, подвижность при температуре 28°C и результаты, полученные на среде Клиглера-Хайна полезны при идентификации. Серотипирование, проводимое после видовой идентификации дает дополнительную информацию.
- Образцы с низким содержанием *Yersinia* могут давать скудный рост на этой среде.

10. Список литературы

1. D.A Schiemann *et al*, 1979. Synthesis of a selective agar medium for *Yersinia enterocolitica*. Can. J. Microbiol. **35** : p.1298-1304.
2. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.



Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33

CE

11/2003

RAPID L.MONO

1.Спецификация продукта

- π Код продукта: 63694
- π Упаковка: 20 готовых к применению чашек с агаром Ø 90 мм
- π Хранение: 2-8°C
- π Срок годности: 4 месяца

Rapid' L. MONO является:
Хромогенной средой для прямой идентификации *L. monocytogenes* после обогащения культуры в среде Fraser 1/2 или бульоне Fraser в течение 4-5 дней после 2-х обогащений или 2-3 дней после одного обогащения.

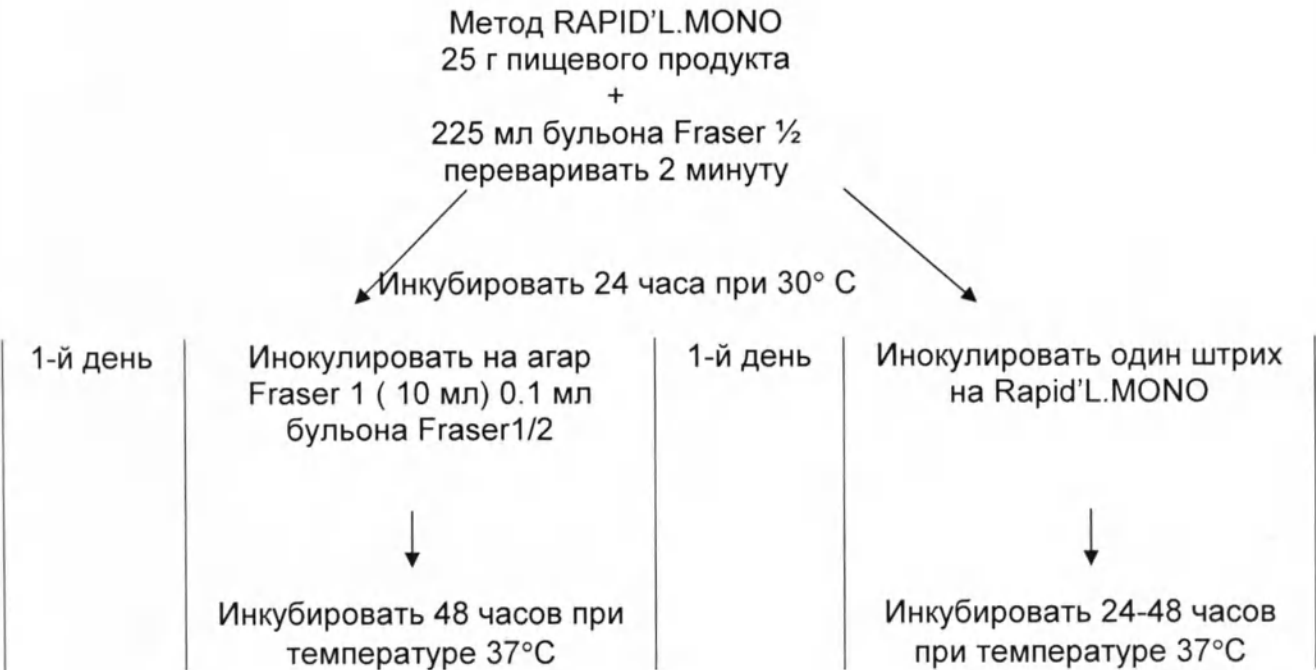
Метод базируется на обнаружении фосфолипаза С- ферментной активности, специфичной для *L. monocytogenes*; и на способности данных видов микроорганизма метаболизировать ксилозу.

После культивирования на данной среде можно наблюдать:
L. monocytogenes⇒ голубые колонии (PIPLC+, ксилоза-)
L. ivanivii⇒ зеленые колонии с желтым ореолом (PIPLC+, ксилоза+)
Остальные *Listeria spp.* ⇒белые колонии.

2. Процедура AFNOR одобрена № SDP-07/04-09/98.

Для хорошей детекции листерий мы должны точно придерживаться протокола исследования; более того, мы получили одобрение AFNOR именно этого протокола исследования.
Rapid'L.MONO является альтернативным методом без подтверждения колоний.

МЕТОД ОБНАРУЖЕНИЯ *L.monocytogenes* И ЕЕ ИДЕНТИФИКАЦИЯ В ПРОДУКТАХ ПИТАНИЯ.



3-й день	Инокулировать 1 штрих на Rapid'L.MONO ↓ Инкубировать 24-48 часов при температуре 37°C Прямая идентификация на Rapid'L.MONO L.monocytogenes образует голубые колонии (PIPLC+) без ореола(ксилоза-)	2-3-й день	Прямая идентификация на Rapid'L.MONO L.monocytogenes образует голубые колонии (PIPLC+) без ореола(ксилоза-)
4-5-й день			

3. **Характеристики и преимущества Rapid'I.MONO.**

Преимущества	Выгодные характеристики
Культуральный метод	Организация лаборатории не изменяется Протокол исследования быстр и легок
Прямая идентификация на среде	Быстрое получение позитивного результата
Подсчет окрашенных колоний	Практично для считывания результата
Нет необходимости в подтверждающем тесте	Практично для применения
Готова к применению	Практично для использования
Высокая специфичность среды основана на специфичном обнаружении ферментной активности листерии	Надежность результатов
Высокая чувствительность, прямой тест; вне зависимости от концентрации вы обнаружите присутствующую листерию в пробе	Надежность результатов.

Испытания в Интитуте Пастера в Париже в Национальном Рефферентном Лабораторном Центре профессора J. Rosourt показали увеличение чувствительности при применении данного метода на 25% и была получена 100% специфичность в соответствии со стандартным методом. Метод получил одобрение AFNOR после испытаний в Институте Пастера в Лилле (SERMHA).

4. **Ассоциированные продукты**

К ассоциированным продуктам относятся:

- π

Основа бульона обогащения Fraser, 500 г

код: 64604

π

Добавка ½ (для первичного обогащения)

Упаковка 10 флаконов q.s. 2.25 литров

код: 64615

π

Добавка 1 (для вторичного обогащения)

Упаковка 10 флаконов q.s. 500 мл

код: 64615

π

Среда Fraser ½ - флакон 225 мл

код: 55779

π

Среда Fraser- 50 пробирок по 10 мл

код: 54568



Уриселект 4

64694

Изолирование и подсчет патогенов мочи

Прямая идентификация E.coli, Proteus и Enterococci

1. Клиническое значение

Уриселект 4 позволяет:

- ☑ изолировать и подсчитывать все микроорганизмы мочевыводящих путей с использованием стандартной бактериологической петли и чашек с агаризованной средой;
- ☑ по визуальной фиксируемой ферментативной активности напрямую подсчитывать бактерии, наиболее часто ответственные за инфекции мочевого тракта: E.coli, Proteus и Enterococci;
- ☑ Ориентировочно определять другие патогены, в особенности K.E.S. группу энтеробактерий (Klebsiella, Enterobacter, Serratia).

2. Принципы

- ☑ E.coli определяется по активности двух ферментов: β -галактозидазы и триптофаназы; β -галактозидаза разрушает хромогенный субстрат, содержащийся в среде, и окрашивает колонии в розовый цвет;
- ☑ Proteus характеризуется триптофан дезаминазной активностью; Proteus mirabilis индол-негативный;
- ☑ Enterococci продуцируют β -глюкозидазу (эскулиназу), которая разрушает второй хромогенный субстрат, содержащийся в среде, и окрашивает колонии в бирюзово-синий цвет.

РАСШИФРОВКА РАЗЛИЧНЫХ ФЕРМЕНТНЫХ АКТИВНОСТЕЙ

☑ Спонтанная

Для β -галактозидазной и β -глюкозидазной активности: изменение окраски колоний после инкубирования при 37 °C в течение 18 до 24 ч:

	Положительная реакция	Отрицательная реакция
β -галактозидаза	Розовая	Нет окрашивания
Глюкозидаза	Бирюзово-синяя	

☑ Спонтанная или после добавления реагента

	Положительная реакция	Отрицательная реакция
TDA	Спонтанно оранжево-коричневое окрашивание колонии, если цвет изменяется слабо, нанесите одну каплю хлорида железа (III) на изолированную колонию: коричнево-зеленое окрашивание развивается через несколько секунд	Нет окраски

☑ После добавления реагента

	Положительная реакция	Отрицательная реакция
Индол	Реагент изменяет окраску в течение не более чем 15 секунд	Реагент остается бесцветным в течение 15 секунд

3. Фасовка

- | | |
|---|-------|
| ☒ Коробки, содержащие 20 чашек Петри 90 мм, | 63726 |
| ☒ Сухая среда 500 г , | 64694 |

4. Состав

Уриселект 4 неселективная агаризованная среда, состоящая из:

- ☒ богатой питательной основы, содержащей пептоны, необходимые для роста всех патогенов мочевыводящего тракта;
- ☒ два хромогенных субстрата для обнаружения бактериальных ферментов β -галактозидаз и β -глюкуронидазы;
- ☒ и триптофан для обнаружения триптофаназной активности (продукция индола и триптофан дезаминазной активности (TDA))

5. Хранение-срок использования

- ☒ Готовая к использованию среда: хранить при $+2^{\circ}\text{C}$ - $+8^{\circ}\text{C}$ в закрытом от света месте.
- ☒ Дегидратированная среда: в тщательно закрытом контейнере при $+15-25^{\circ}\text{C}$.

Срок использования и номер лота указаны на упаковке.

6. Методика

Материал

- ☒ Поставляемый материал: среда Уриселект 4
- ☒ Необходимые, но не поставляемые материалы:
реагент Ковача: 15 мл ($\times 2$) флакон кат. № 55313

Подготовка среды

Перед использованием среды гомогенизируйте порошок. Непрерывно помешивая, растворите 56,8 г в 1 л дистиллированной воды до получения гомогенной суспензии (приблизительно 10 минут).

Медленно помешивая, полностью растворите агар, и доведите среду до кипения. Если необходимо установите pH на уровне 7,3. Стерилизуйте автоклавированием при 120°C в течение 15 минут.

Разлейте по чашкам Петри или пробиркам.

Отбор образцов мочи

Методы отбора проб мочи значительно влияют на результаты цитологического и бактериологического исследований; рекомендуется отбирать первую утреннюю порцию мочи.

Во избежание контаминации сапрофитными бактериями образцы должны отбираться следующими методами:

У мужчин: обработайте выход уретры и головку полового члена раствором Дакина;

У женщин: нет необходимости в катетеризации, наружные половые органы обработайте раствором Дакина. Рекомендуется вводить вагинальный тампон, особенно во время менструации.

У мужчин и женщин отбросьте первую порцию мочи и заберите вторую порцию в стерильный контейнер.

У детей: используйте стерильный мочевой контейнер.

Посев необходимо произвести в течение 1 часа после отбора; если это сделать невозможно, образцы должны храниться при $+4^{\circ}\text{C}$ для предотвращения роста бактерий.

Нанесение на чашки

- ☒ Используйте стандартную бактериологическую петлю.
- ☒ Держа петлю вертикально, погрузите ее в мочу.

- ☑ Распределите мочу по агару вдоль одного диаметра (1)
- ☑ Не погружая петлю вторично, начните движение петли сверху вниз зигзагообразным движением перпендикулярно первому мазку (2).



(1)



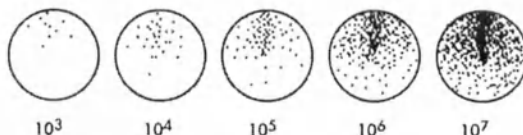
(2)

Инкубирование

Инкубируйте чашку при 37 °C в течение 18 – 24 ч.

7. Интерпретация результатов**Подсчет**

После инкубации в течение 18 – 24 ч при 37 °C сравните плотность колоний в верхней половине чашки с рисунком:



количество организмов на 1 мл мочи

Количество, равное 10^4 или менее обычно свидетельствует о контаминации, но должно интерпретироваться в соответствии с количеством лейкоцитов и клинической картиной.

Количество, равное 10^5 или более обычно свидетельствует об инфекции, если проба мочи собрана правильно.

Идентификация

Идентификация микроорганизма основана на цвете колоний.

РОЗОВЫЙ

β -галактозидазная активность доказывает присутствие *E.coli*, однако требуется подтверждение продукции индола. Положительный тест окончательно подтверждает результат первичной идентификации, отрицательный результат требует проведения идентификации обычными методами.

Выявление продукции индола

Для культур, содержащих только один вид микроорганизмов, нанесите одну каплю реагента Ковача на отдельную колонию прямо на агар:

- если цвет реагента изменится на розовый менее чем за 15 секунд, организм индол «+»;
- если реагент не изменяет цвет в течение 15 секунд, организм индол «-».

Для культур, содержащих несколько видов микроорганизмов, проводите этот тест, используя методику, описанную в параграфе 3 раздела «Комментарии».

БИРЮЗОВО-СИНИЙ

β -галактозидазная активность: исследуйте культуру под микроскопом

Кокки, маленькие колонии (0,5 - 1,5 мм в диаметре) яркого бирюзово-синего цвета – энтерококки. Если недостает одной из этих характеристик, проводите идентификацию, используя обычные методы.

СИНЕ-ФИОЛЕТОВЫЙ

β -галактозидазная и β -глюкуронидазная активность: исследуйте культуру под микроскопом.

Бациллы, крупные колонии (2,0 - 3,0 мм в диаметре) сине-фиолетового цвета ориентировочно относятся к группе KES микроорганизмов (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) и требует идентификации обычными методами.

ОРАНЖЕВО-КОРЕЧНЕВЫЙ (с изменением в агаре на коричневый)

Триптофан дезаминазная активность (TDA +) свидетельствует о принадлежности организма к группе *Proteus-Providencia-Morganella*.

(Если окрашивание слабое, работа фермента может быть усилена нанесением капли хлорида железа(III) на колонию: за несколько секунд реагент приобретает коричнево-зеленое окрашивание).

Тест на продукцию индола:

Для культур, содержащих только один вид микроорганизмов, нанесите одну каплю реагента Ковача на коричневую колонию:

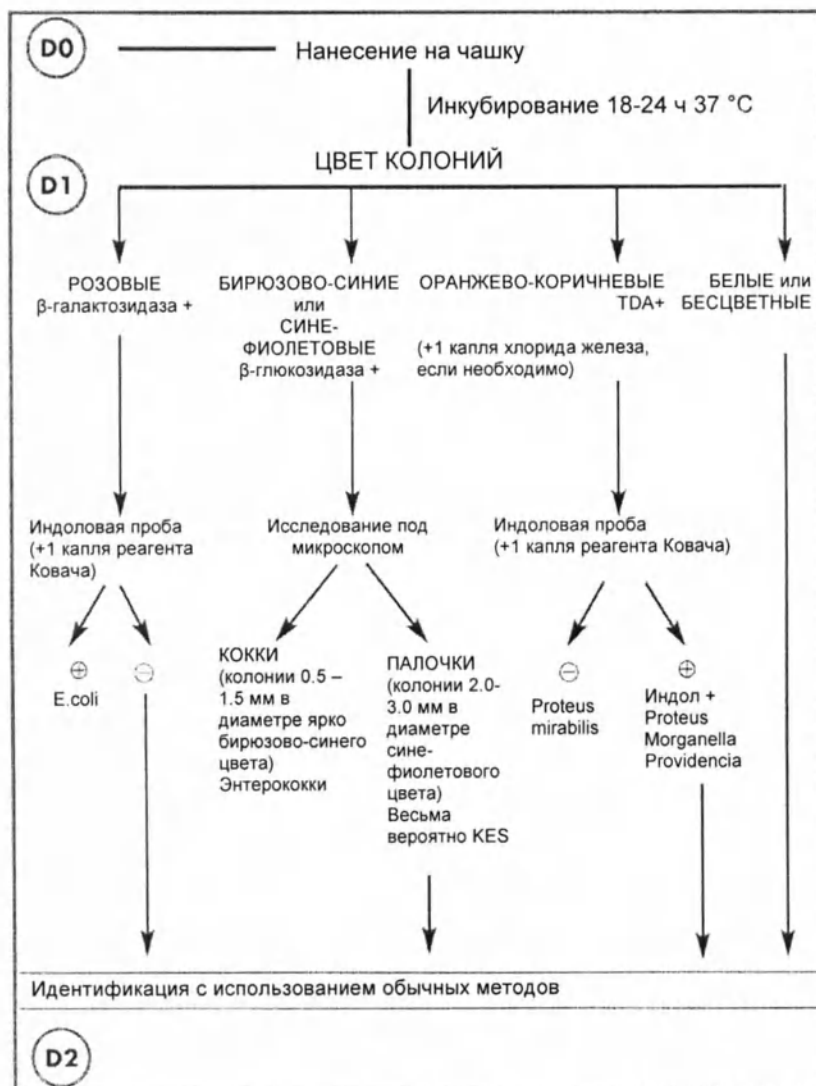
- если цвет реагента изменится на розовый менее чем за 15 секунд, значит организм: индол «+» *Proteus*, *Providencia* или *Morganella*. Точная идентификация должна проводиться обычными методами.

- если реагент не изменяет цвет в течение 15 секунд, организм индол «-», *Proteus mirabilis*.

Для культур, содержащих несколько видов микроорганизмов, проводите этот тест, используя методику, описанную в параграфе 3 раздела «Комментарии».

БЕЛЫЕ ИЛИ БЕСЦВЕТНЫЕ

Идентификация обычными методами.



ПРОФИЛИ НАИБОЛЕЕ ЧАСТО ВСТРЕЧАЮЩИХСЯ ОРГАНИЗМОВ

Бактерии	КОЛОНИИ	ХАРАКТЕРИСТИКИ			
	цвет	β -галактозидаза	β -глюкозидаза	индол	TDA
<i>E.coli</i>	Розовый	+	-	+	-
<i>Proteus mirabilis</i>	Оранжево-коричневый	-	-	-	+
Индол «+»: <i>Proteus</i> <i>Morganella</i> <i>Providencia</i>	Оранжево-коричневый	-	-	+	+
Энтерококки	Бирюзово-синий	+	-	-	+
K.E.S. энтеробактерии	Сине-фиолетовый	+(-)*	+	+/-	-

* Крайне редко некоторые штаммы группы K.E.S. имеют слабую β -галактозидазную активность: цвет колоний может варьировать между сине-фиолетовым и бирюзово-синим.

8. КОММЕНТАРИИ

1. β -галактозидаза

- ☒ Более 99 % штаммов *E.coli* имеют β -галактозидазную активность.
- ☒ Лишь небольшая часть штаммов других микроорганизмов (не *E.coli*) продуцируют β -галактозидазу и дают розовые колонии на среде Уриселект 4. Часть из них редко встречается при патологии мочеполового тракта (сальмонеллы, шигеллы, стрептококки группы А); другая часть является индол негативной (цитробактер, стафилококки, стрептококки группы В).

2. Лишь малая часть штаммов *E.coli* является индол-негативной.

3. β -глюкозидаза

- ☒ Среди стрептококков только энтерококки имеют β -глюкозидазу, что окрашивает колонии в яркий бирюзово-синий цвет. Слабо голубые колонии кокков не обязательно являются энтерококками и должны исследоваться обычными методами (как правило, это стрептококки групп А и В).
- ☒ Некоторые штаммы *Proteus vulgaris* и *Providencia rettgeri* продуцируют β -глюкозидазу.

4. β -галактозидаза + β -глюкозидаза

- ☒ В основном бактерии группы K.E.S. имеют и β -галактозидазную и β -глюкозидазную активность, а колонии окрашиваются в сине-фиолетовый цвет. Однако, некоторые штаммы этой группы могут иметь слабую β -галактозидазную активность и цвет колоний от сине-фиолетового до бирюзово-фиолетового
- ☒ *Citrobacter diversus* дает сине-фиолетовые индол-негативные колонии.

5. Каталазный, оксидазный тесты и латексная агглютинация может выполняться напрямую с колоний, изолированных с Уриселект 4.

6. Обычные идентификационные процедуры и тесты антибиотикочувствительности могут проводиться напрямую с колоний, полученных на среде Уриселект 4.

7. Индоловая проба для колоний, содержащих более одного микроорганизма:

- ☒ Проба Ковача: перенесите 1-3 одинаковых колонии на бумагу для блоттинга. Добавьте одну каплю реагента Ковача. Индол-позитивные колонии дают ярко-розовое окрашивание, индол-негативные остаются неокрашенными.
- ☒ DMACA тест: перенесите 1-3 одинаковых колонии на бумагу для блоттинга. Добавьте одну каплю DMACA реагента. Индол-позитивные колонии дают бирюзово-синее окрашивание, индол-негативные остаются неокрашенными.

8. *Proteus penneri*, редко встречающийся организм, является TDA-позитивным и индол-негативным.

9. Во время растворения сухой среды на дне могут оставаться нерастворяющиеся частицы. Их присутствие не влияет на культуральные качества среды.



9. КАЧЕСТВО СРЕДЫ

Сравнительные клинические испытания Уриселект 4 и Уриселект 3 показали:

- ☒ Среда, использующая β-галактозидазную активность, имеет лучшую чувствительность по отношению к E.coli относительно среды, использующей β-глюкуронидазную активность. Во время испытаний на Уриселект 4 напрямую было идентифицировано 105 штаммов E.coli из 107, а на Уриселект 3 только 102.
- ☒ Среда Уриселект 4 имеет повышенную контрастность и читаемость: прозрачность и цвет агара, окраска колоний (особенно энтерококки, E.coli и бактерии группы K.E.S.). Для полимикробных культур оптимизирована разделительная способность.

10. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Качество среды Уриселект 4 может быть проконтролировано с использованием следующих штаммов (18-24 ч при 37 °С).

Штаммы	КОЛОНИИ		ХАРАКТЕРИСТИКИ			
	Ø в мм	цвет	β-галактозидаза	β-глюкозидаза	индол	TDA
E.coli ATCC 25922	2.0 или 3.0	Розовый	+	-	+	-
E.coli SDP 10.1.55	2.0 или 3.0	Розовый	+	-	+	-
E.faecalis ATCC 29212	1.0	Бирюзово-синий	-	+	-	-
P.mirabilis ATCC 25933	2.0	Оранжево-коричневый	-	-	-	+
P.vulgaris ATCC 13315	2.0	Оранжево-коричневый	-	-	+	+
K.pneumonia ATCC 13883	3.0	Сине-фиолетовый	+	+	-	-
S.aureus ATCC 25923	1.0 или 2.0	белый	-	-	-	-
S. haemolyticus	1.0 или 2.0	белый	-	-	-	-

11. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Вся продукция, производимая и продаваемая «Био-Рад лаборатории», прошла контроль качества, начиная с этапа получения материалов до продажи окончательного продукта. Контроль качества выполняется для каждой серии конечного продукта. Производственная серия поступает в продажу только в случае соответствия критериям проверки.

12. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДИКИ

1. Незначительная часть штаммов стафилококка может ингибироваться на Уриселект 4.
2. Незначительная часть штаммов грибов может ингибироваться на Уриселект 4.
3. Если в исследуемой пробе предполагается концентрация микроорганизмов выше, чем 10^7 в мл мочи, для получения хорошо изолированных колоний рекомендуется использовать две чашки последовательно без повторного смачивая петли или развести пробу.
4. При инкубации в течение более чем 24 ч на поверхности некоторых штаммов S. aureus может появиться голубая пленка.

агар / среда для селективной изоляции дрожжей, прямой идентификации *Candida albicans* и предварительной идентификации *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*

IVD

1- СФЕРА ПРИМЕНЕНИЯ

Кандиселект®4 это агаризованная среда для:

- селективной изоляции дрожжей.
- прямая идентификация *Candida albicans* путем определения специфической ферментативной активности, обуславливающей окрашивание колоний в цвета от розового до фиолетового.
- предварительная идентификация *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* и *Candida krusei* по бирюзовому окрашиванию и морфологическим свойствам колоний.

2- ПРИНЦИП

- Идентификация *Candida albicans* основана на обнаружении гексозаминидазной активности, специфичной для этих видов, с использованием хромогенного субстрата, содержащегося в среде и обуславливающая окраску колоний от розовой до фиолетовой.
- Обнаружение фосфатазной активности с использованием второго субстрата, присутствующего в среде, позволяет предварительно идентифицировать *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* и *Candida krusei*: по колониям бирюзового цвета и типичным морфологическим характеристикам, характерным для этих видов.

3- КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

- Готовая к использованию среда:
- Набор из 20 чашек Петри (90 мм) (CANDI 4) код 63746

4- НЕОБХОДИМЫЕ ИНГРЕДИЕНТЫ

Кандиселект®4 селективная среда, состоящая из:

- Питательной основы (пептоны, дрожжевой экстракт и сахара), обеспечивающей рост дрожжей.
- Два хромогенных субстрата для детекции гексозаминидазной и фосфатазной активности.
- Смесь левомицетина и гентамицина, ингибирующих рост бактерий.

5- ХРАНЕНИЕ

- Готовая к использованию среда: при + 2 - 8° C, хранить в темном месте. Срок годности и номер серии указан на упаковке.

6- ИНСТРУКЦИИ

Материал:

- Поставляемый материал: среда Кандиселект 4®

Инокуляция /Инкубация:

- Инокулируйте клинический материал прямо на среду Кандиселект 4, используя обычные методы: как и для всех хромогенных сред, очень важно наносить материал с малыми интервалами для получения хорошо изолированных колоний (с более типичной морфологией).
Изучите соответствующие рекомендации по хранению клинического материала(1).
- На Кандиселект®4 можно инокулировать колонии дрожжей, предварительно изолированных на других культурах.
- Инкубируйте чашки при 36±1 °C в течение 24-48 часов.

Считывание/Интерпретация:

- Розовые - фиолетовые колонии = *Candida albicans*
- Очень интенсивные бирюзово-зеленые, матовые неравномерно окрашенные, выпуклые колонии с гладкой поверхностью (S-морфологией) - предварительно *Candida tropicalis*.
- Бледные бирюзово-синие, плоские блестящие (S) колонии, с морфологией «рыбий глаз» (бледный бирюзово-синий центр и белая периферия) через 48 часов инкубации - предварительно *Candida glabrata*.
- Бирюзово-синие колонии с неровной поверхностью (R-морфология), сухие с неровным контуром – предварительно *Candida krusei*.
- Белые колонии через 48 часов инкубации должны идентифицироваться обычными методами.

7. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Все производимые реагенты производятся в соответствии с системой качества, начиная с получения сырья до момента продажи продукта. Каждый лот проходит контроль качества и выводится на рынок только после подтверждения соответствия критериям качества. Сертификат соответствия имеет каждая партия продукта, выпускаемая Био-Рад.

8. ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Гексозаминидазная активность

- Штаммы *Candida dubliniensis* обладают гексозаминидазной активностью и их колонии окрашиваются в розовый-фиолетовый цветно эти виды встречаются крайне редко.

9. КОММЕНТАРИИ

1. Гексозаминидазная активность

- Штаммы *Candida albicans* с выраженной гексозаминидазной активностью имеют розово-фиолетовое окрашивание (поверхность и основание) через 24 часа инкубации.

Через 48 часов инкубирования может наблюдаться диффузия красителя в агар вокруг колонии: может формироваться гало.

- наличие колоний с белой поверхностью и розово-фиолетовым основанием через 24 часа инкубирования позволяет предположить наличие *Candida albicans*.

2. Фосфатазная активность

Основная часть штаммов *Candida tropicalis* имеет интенсивную фосфатазную активность и колонии бирюзово-зеленого цвета через 24 часа инкубации.

Через 48 часов инкубации интенсивное бирюзово-зеленое окрашивание может диффундировать в агар и образовывать гало.

Некоторые штаммы *Candida parapsilosis* и *Candida kefyr* с более интенсивной фосфатазной активностью могут давать колонии бирюзово-синего цвета через 48 часов инкубации.

3. Температура инкубации

При подозрении на инфекцию *Cryptococcus neoformans* рекомендуется инокулировать параллельно на вторую чашку Петри и инкубировать ее при 30 °C, поскольку эти виды растут при 30 °C быстрее, чем при 37 °C.

4. Хранить в защищенном от света месте

Среда должна всегда храниться в защищенном от света месте.

5. Дополнительные тесты

Обычные дополнительные идентификационные тесты, такие как изучение биохимических характеристик, латексная агглютинация могут напрямую проводиться с колоний, полученных на Кандиселект[®] 4.

10. СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1- Basic Laboratory Procedures Clinical Bacteriology . World Health Organization . Geneva. 1991. 1st edition
- 2- CASAL M. and LINARES M.J. (1983). Contribution to the study of the Enzymatic Profiles of Yeast organisms with Medical Interest. Mycopathologia 81. 155-159.
- 3- DALTON et Al. (1989). Rapid Identification of *Candida albicans* using 4-methylumbelliferyl-N-Acetyl-β-D-Galactosaminide. Diagnostic Microbiology and Infections Disease 12. 521-523.
- 4- MANAFI M. and Al. (1991). Fluorogenic and Chromogenic Substrates Used in Bacterial Diagnostics. Microbiological Reviews 55. 335-348.
- 5- PERRY J.L. and MILLER G.R. (1987). Umbelliferyl Labeled Galactosaminide as an Aid in Identification of *Candida albicans*. J. Clin. Microbiol. 25. 2424-2425.



Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel. : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33

СЕЛЕКТИВНАЯ СРЕДА ДЛЯ ИЗОЛЯЦИИ И ПРЯМОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ МЕТИЦИЛЛИН УСТОЙЧИВОГО STAPHYLOCOCCUS AUREUS

IVD

1- ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

МРСА Селект это хромогенная среда для изоляции и прямой идентификации метициллин устойчивого *Staphylococcus aureus* (МРСА)

Эта среда специально адаптирована для скрининга образцов на наличие МРСА, в особенности мазков из носа.

2- ПРИНЦИП

Селективность этой среды обусловлена наличием высокой концентрацией соли, смеси антибиотиков и антимикотиков, ингибирующих большинство микроорганизмов за исключением МРСА.

Идентификация основана на выявлении специфической ферментной активности *Staphylococcus aureus*: разрушении хромогенного субстрата и окрашивании колоний в розовый цвет.

Метициллин устойчивый *Staphylococcus aureus* – мелкие розовые колонии

Метициллин устойчивый коагулазонегативный стафилококк – мелкие белые колонии (возможен розовый оттенок)

Метициллин чувствительный стафилококк – не растет

3- КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Готовая к использованию среда:

- Набор из 20 чашек Петри (90 мм) (MRSA) код 63747

Внешний вид среды: непрозрачный белый агар

4- СОСТАВ

МРСА Селект селективная среда для изоляции МРСА состоит из:

- оптимизированной для роста стафилококков основы,
- смеси антибиотиков и антимикотиков с высокой концентрацией соли, ингибирующей рост дрожжей, большинства Грам- и Грам+ бактерий и метициллин чувствительных стафилококков.
- хромогенного субстрата для прямой идентификации *Staphylococcus aureus*.

5- ХРАНЕНИЕ

• Готовая к использованию среда: при + 2 - 8° С, хранить в темном месте. Срок годности и номер серии указан на упаковке.

6- ИНСТРУКЦИИ**Материал:**

• Поставляемый материал: среда МРСА Селект.

Инокуляция /Инкубация:

Прямая

Инокулировать штрихом напрямую устройством для забора материала (назальный тампон).

Непрямая

Поместить образец (тампон) в 1 мл среды (или стерильного физраствора). Инокулировать штрихом 50 мкл суспензии.

Инкубировать 18-24 ч при 37 °С.

Считывание/Интерпретация:

Мелкие розовые колонии - МРСА

Белые колонии (возможен розовый оттенок) – отсутствие МРСА (высокая достоверность в отношении коагулазонегативного метициллин резистентного стафилококка).

7- КОММЕНТАРИИ

При возникновении сомнений в результатах идентификации провести подтверждающий агглютинационный тест изолированной колонии (Pastorex Staph Кат. № 56356).

8- ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И СПЕЦИФИЧНОСТЬ

Проспективные клинические исследования, проведены на 648 образцах от пациентов с высоким риском МРСА (86 образцов подтвердились).

Исследования показали, что чувствительность составляет 98,9%, а специфичность 99,8 % при инкубации 24 часа.

9- КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Все производимые реагенты производятся в соответствие с системой качества, начиная с получения сырья до момента продажи продукта. Каждый лот проходит контроль качества и выводится на рынок только после подтверждения соответствия критериям качества. Сертификат соответствия имеет каждая партия продукта, выпускаемая Био-Рад.

10- ОГРАНИЧЕНИЯ

Крайне редко могут встречаться медленно растущие МРСА, индуцирующие окраску более чем через 24 ч. Однако, характеристики среды оптимизированы для культивирования в течение 24 ч. Следовательно, рекомендуется проводить дополнительную идентификацию колоний с медленным развитием розового окрашивания (при инкубации более 28 ч).

Если интерпретацию 24-часовой культуры необходимо отложить, чашки хранить при 2...8 °С.

Редко встречающиеся штаммы *Staphylococcus epidermidis* могут давать слабо розовое окрашивание колоний. Однако, низкая интенсивность окрашивания позволяет отличить их от МРСА.

Некоторые штаммы *Acinetobacter* дают интенсивно розовое окрашивание. Однако, он имеет куполообразные слизистые колонии, отличающиеся от МРСА.

**СЕЛЕКТИВНАЯ СРЕДА ДЛЯ ИЗОЛЯЦИИ И ПРЯМОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ
STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

IVD

1- ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

СА Селект это хромогенная среда для изоляции *Staphylococcus aureus* (МРСА) в течение 18-24 ч

Обнаружение специфической ферментативной активности позволяет провести прямую идентификацию *Staphylococcus aureus* и отличить его от других видов.

2- ПРИНЦИП

В основе действия среды лежит оптимизация концентраций питательных веществ.

Селективность среды основана на присутствии солей, антибиотиков и антигрибных агентов, ингибирующих большинство микроорганизмов за исключение стафилококков.

Фосфатазная активность позволяет напрямую идентифицировать колонии *Staphylococcus aureus* по оранжево-розовому окрашивания через 18-24 ч

3- КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

Готовая к использованию среда:

- Набор из 20 чашек Петри (90 мм) (SA) код 63748

Внешний вид среды: непрозрачный белый агар

4- СОСТАВ

СА Селект состоит из:

- оптимизированной для роста стафилококков основы,
- смеси антибиотиков и антимикотиков с высокой концентрацией соли, ингибирующей рост дрожжей, большинства Грам- и Грам+ бактерий.
- хромогенного субстрата для прямой идентификации *Staphylococcus aureus* (оранжево-розовые колонии) и дифференциации от других стафилококков.

5- ХРАНЕНИЕ

- Готовая к использованию среда: при + 2 - 8° С, хранить в темном месте. Срок годности и номер серии указан на упаковке.

6- ИНСТРУКЦИИ**Материал:**

- Поставляемый материал: среда СА Селект.

Инокуляция /Инкубация:

Инокулировать штрихом напрямую устройством для забора материала (назальный тампон). Допускается инокуляция суспензией колонии или культуре крови в 0,5 % солевом растворе. Необходимо добиваться адекватной плотности посева, обеспечивающей получение изолированных колоний

Инкубировать 18-24 ч при 37 °С в аэробных условиях.

Считывание/Интерпретация:**Окончательная идентификация:**

От розовых до оранжевых - *Staphylococcus aureus*.

Предварительная идентификация:

От белых до бледнорозовых – предварительно *Staphylococcus epidermidis*.

От голубых до бирюзовых – предварительно *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus xylosus*.
Фиолетовые – предварительно *Staphylococcus intermedius*.
Остальные стафилококки белые или желтые: *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus hominis*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus caprae*, *Staphylococcus lugdunensis*, *Staphylococcus sciuri*.
Примечание: При инкубации более 24 ч колонии необходимо подтверждать тестом Пасторекс Стаф Плюс (кат. №№ 56356 и 56353). Колонии с цветом, отличающимся от розового-оранжевого, необходимо дополнительно идентифицировать.

7- ЭФФЕКТИВНОСТЬ

Проспективные клинические исследования проведены на 322 образцах поверхностных и глубоких ран, пунктатов, культур крови, катетеров, назальных и глоточных свабов, мочи и кала параллельно инокулировали СА Селект и агар Чапмана. Всего было получено 152 изолята *Staphylococcus aureus*, 149 из которых определили на СА Селект через 18/24 ч.

	Чувствительность, %	Специфичность, %
СА Селект 24 ч	98	99,9
Агар Чапмана + Коагулазный тест 24 ч	90,8	99,4
Агар Чапмана + Коагулазный тест 48 ч	94,7	99,4

8- КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Штаммы	Результат через 18-24 ч при 37 оС
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Розовые колонии
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300	Розовые колонии
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	Нет роста

9- КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Все производимые реагенты производятся в соответствии с системой качества, начиная с получения сырья до момента продажи продукта. Каждый лот проходит контроль качества и выводится на рынок только после подтверждения соответствия критериям качества. Сертификат соответствия имеет каждая партия продукта, выпускаемая Био-Рад.

10- ОГРАНИЧЕНИЯ

При инокуляции концентрированной культурой цвет колонии может становиться более интенсивным (оранжевым).
Некоторые изоляты *Staphylococcus epidermidis* и *Staphylococcus schleiferi* могут давать слабо розовое окрашивание через 18-24 ч. От *Staphylococcus aureus* они отличаются по размеру и цвету колоний. В случае сомнений необходимо подтверждать результат латексным тестом Пасторекс Стаф Плюс.
Большинство нестафилококковых бактерий ингибируются. Однако, коринебактерии, редко Грам – палочки и дрожжи могут расти на этой среде. Размер, цвет и морфология колоний позволяет отличить их от *Staphylococcus aureus*.
Биохимические особенности некоторых изолятов могут приводить к частичному или полному ингибированию роста стафилококка на данной среде.
Для некоторых изолятов, особенно из кала, окрашивание может быть слабо развито. Четкую демонстрацию ферментной активности гарантируют изолированные колонии.

Селективная изоляционная среда для скрининга *Streptococcus agalactiae*



1. ПРИМЕНЕНИЕ

Стреп Б Селект – селективная, хромогенная, агаризованная среда для выделения и предварительной идентификации *Streptococcus agalactiae*, в настоящее время названный стрептококком группы Б (СГБ). Эта среда частично применима для скрининга стрептококков группы Б в вагинальных или вагинально-ректальных образцах беременных женщин.

2. ОКРУЖАЮЩАЯ СРЕДА

Стрептококки группы Б или *Streptococcus agalactiae* – комменсальные микроорганизмы генитального и кишечного трактов человека. Они известны как возбудители тяжелых инфекций новорожденных (гнойные менингиты).

Материнская вагинальная колонизация стрептококками группы Б увеличивает риск передачи ребенку во время родов. Для предупреждения инфекций новорожденных CDC 2002 (1) рекомендует обследование беременных женщин на стрептококки группы Б используя вагинально-ректальные мазки отобранные между 35 и 37 неделями беременности. CDC 2002 (2) процедура рекомендует первоначальную фазу обогащения в бульоне перед посевом на селективную среду для выделения.

3. ПРИНЦИП

Стреп Б Селект селективная среда для определения и предварительной идентификации стрептококков группы Б в вагинальных или вагинально-ректальных образцах. Ее пептонный и питательный состав поддерживает рост СГБ. Селективная смесь антибиотик-антифунгальных агентов ингибирует рост большинства микроорганизмов за исключением стрептококков, некоторых энтерококков и лактобацилл. Среда содержит несколько хромогенных субстратов, чтобы определять различные ферментативные активности, которые ведут к характерному окрашиванию колоний следующих видов:

- СГБ: синие колонии
- Энтерококки: от розовых до фиолетовых колоний
- Лактобациллы: маленькие розовые колонии

4. ОПИСАНИЕ И СОСТАВ

- Готовая к использованию среда:
 - Упаковка 20 чашек Петри (90 мм)

(Стреп Б) каталожный номер 63750

- Теоретическая формула (г/л)

- Агар	15
- Пептоны и ростовые факторы	33
- Дифференциальные агенты	3
- Хромогенные субстраты	0,4
- Антибиотические и антифунгальные агенты	0,04

5. ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ И ПРАВИЛА ТЕХНИКИ БЕЗОПАСНОСТИ

Для *in vitro* диагностического использования.

Соблюдайте асептические методы и организуйте профилактические мероприятия против микробиологической опасности. После использования среды, контейнеры с образцами и другие контаминированные материалы должны стерилизоваться или размещаться в соответствии с определенными лабораторными процедурами.

Клинические образцы могут содержать патогенные микроорганизмы, включая вирусы гепатита или вирус иммунодефицита человека. Универсальные правила техники безопасности и данное руководство должны соблюдаться когда отдельные предметы контаминированы кровью и/или другими жидкостями тела.

6. ХРАНЕНИЕ

- Готовая к использованию среда: +2-8⁰С
- Чашки Петри должны храниться в их оригинальной упаковке защищенными от света.

Дата истечения срока годности и номер партии напечатаны на коробке и на каждой чашке Петри.

7. ПОРЧА ПРОДУКТА

Не используйте чашки если они демонстрируют очевидную контаминацию, изменение цвета, растрескивание или другие признаки порчи.

8. ОТБОР ОБРАЗЦОВ И ПОДГОТОВКА

Следуйте учрежденным национальным руководствам или CDC 2002 процедуре (2). Использование транспортной среды должно быть валидировано для типа образца для тестирования. Следуй рекомендациям производителей транспортной системы.

9. ПРОЦЕДУРА ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ

Необходимые материалы: Стреп Б Селект среда

Необходимые, но не входящие в набор материалы:

Пасторекс Стреп Б (61727)

Экстракционный фермент (61729)

Агглютинационные карты (61723)

Необходимые лабораторные материалы.

Прямой посев образца для тестирования:

Инокулируйте непосредственно Стреп Б Селект образцом пациента используя традиционную методику выделения. Смотрите данное руководство по хранению образцов пациентов (3).

Инокуляция после обогащения (2):

Инокулируйте Стреп Б Селект среду 50 мкл бульона.

Примечание:

Как и для других хромогенных сред, важно засеивать интервалами с малым шагом для того чтобы получить хорошо изолированные колонии: морфология и цвет колоний будет тогда более типичен.

Инкубирование:

Инкубировать среду аэробно 24-48 часов в темноте при 35-38⁰С.

Интерпретация:

Через 24±4 часа и через 48 часов для результатов, которые были отрицательными или неопределенными при первом учете (=24±4).

Синие колонии: Предварительно *Streptococcus agalactiae*, подтвердить типированием по Lancefield (Пасторекс Стреп Б 61727).

Примечание:

Колонии *Streptococcus agalactiae* обычно бирюзово синие, но могут казаться небесно голубыми, их цвет варьирует в зависимости от их ферментативной активности.

10. РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Проводилось исследование 492 вагинально-ректальных мазков, суспендированных в 2 мл стерильного физиологического раствора. Первичное инокулирование культуры выполнялось на Стреп Б Селект и колумбийский агар с налидиксовой кислотой и колистином 0,05 мл этой суспензии. Оставшийся объем переносился в селективный обогащающий бульон (LIM бульон). После инкубации в течении одной ночи, эти обогащающие бульоны были субкультивированы на те же самые среды. Агаровые чашки инкубировались при 35⁰С 24-48 часов аэробно для Стреп Б Селекта и при СО₂ для Каламбиа с колистином и налидиксовой кислотой. 137 СГБ были выделены на крайней мере одной из двух исходных культуральных средах и/или на субкультурах после предобогащения.

	Кровяной агар с колистином и налидиксовой кислотой	Стреп Б Селект	Кровяной агар с колистином и налидиксово й	Стреп Б Селект
	Первичная культура, считывание через 48 часов		После обогащения, считывание через 48 часов	
Характеристика культур ¹	114	142	184	169

Подтвержденный СГБ	70	100	110	132
Чувствительность (%)	51 %	73 %	80 %	96 %

¹Морфологическое предположение СГБ на:

Коламбия+ колистин+налидиксовая к-та →β гемолизирующие колонии

Стреп Б Селект→синие колонии.

11. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ТЕСТА

Внешний вид Стреп Б Селекта: Непрозрачный белый агар

Штаммы сравнения	Результат культивирования через 24 часа при 35-37 °С
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 13813	Бирюзово-синие колонии
<i>Streptococcus agalactiae</i> ATCC 12386	Бирюзово-синие колонии
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	Ингибирование

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Все продукты произведенные и проданные кампанией Био-Рад контролируются системой обеспечения качества от получения сырого материала до продажи конечного продукта. Каждая партия конечного продукта подвергается контролю качества и не продается только если соответствует принятым критериям.

Документы на производство и контроль каждой партии хранятся производителем для справок.

13.ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ

Если инокулят содержит большую плотность *Streptococcus agalactiae*, среда вокруг осадка может окрашиваться.

Колонии некоторых видов, не *Streptococcus agalactiae* (например *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus porcinus* и *Streptococcus gallolyticus*) могут казаться синими, рекомендуется подтверждать все синие колонии типированием.

Внутренние потребности некоторые стрептококков могут приводить отсутствию или частичному ингибированию их роста.

14. ЛИТЕРАТУРА

См. английскую версию.

IVD

1. Сфера применения

Среда для тестирования *Haemophilus* (НТМ) стандартизованная твердая среда, рекомендованная для определения чувствительности к антибиотикам *Haemophilus influenzae*.

2. Принцип

Среда НТМ приготовлена на основе агара Мюллера-Хинтона путем добавления факторов роста, необходимых для *Haemophilus influenzae*, НАД и гемина. Низкое содержание в среде тимина и тимидина оптимально для тестирования чувствительности к триметоприму-сульфометоксазолу. Среда соответствует стандарту NCCLS M2-A7.

3. Фасовка

Готовая к использованию среда: коробка из 10 чашек Петри (90 мм) Кат. № 63775
(маркировка - НТМ)

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Среда НТМ приготовлена по формуле, описанной Jorgensen с соавт.

Основа агара Мюллера-Хинтона	21
НАД	0,015
Гемин	0,015
Дрожжевой экстракт	5
Агар	15
Итоговый pH	7.3 ± 0.1

5. Хранение

• Готовая к использованию среда: при температуре +2-8°C.

Срок годности и номер лота указаны на упаковке.

6. Методика

• Поставляемый материал: среда для тестирования *Haemophilus*

• Специфический материал, не входящий в поставку:

- Стандарт мутности, эквивалентный 0.5 единиц по МакФарланду.

- Лабораторное оборудование, необходимое для определения чувствительности к антибиотикам диско-диффузионным методом.

Предупреждения по использованию: В соответствии с действующими рекомендациями NCCLS, CA-SFM). Всегда соблюдать требования действующих методик и предупреждений касающихся микробиологической безопасности.

Инокуляция:

Из чистой свежей культуры, полученной на шоколадном агаре, приготовить суспензию микроорганизма на бульоне Мюллера-Хинтона или солевом растворе (0.9% NaCl) с плотностью 0,5 по стандарту мутности по МакФарланду. Методика стандартизации инокулюма описана в различных руководствах NCCLS и CA-SFM по диско-диффузионному методу.

Если среду хранили при температуре 4°C, позволить ей нагреться до комнатной температуры (18-30°C). Если на поверхности среды остались излишки жидкости, перед использованием подсушить чашку в течение 10-30 минут в инкубаторе при температуре 35°C.

Инокуляция методом разливания (метод, рекомендованный CA-SFM):

Приготовить стандартизованный инокулюм из начальной суспензии, следуя процедуре, описанной CA-SFM для тестируемого вида бактерии. Разлить полученную суспензию по всей поверхности чашки. Удалить излишки суспензии.

Инокуляция штрихованием (метод Кирби-Бауэра, рекомендованный NCCLS):

Инокулировать чашку стандартизованным инокулюмом в соответствии с процедурой описанной в NCCLS:

- Поместить стерильный нетоксичный тампон на стержне в суспензию.
- Удалить излишки суспензии, вытирая тампон об стенку пробирки.
- Инокулировать чашку тампоном так, чтобы получить сливной рост. Нанести диски диспенсером или пинцетом, слегка надавливая.

Инкубация:

В соответствии с действующими рекомендациями NCCLS CA-SFM.

- от 18 до 24 ч при температуре 35-37°C (CA-SFM)
- от 16 до 18 ч при температуре 35-37°C в атмосфере, содержащей от 5 % до 7% CO₂ (NCCLS).

7. Интерпретация результатов

Интерпретация результатов определения чувствительности, полученных диско-диффузионным методом или методом разведения в агаре описана в регулярно обновляющихся рекомендациях CA-SFM NCCLS.

8. Характеристики/ контроль качества

Внешний вид готовой к использованию среды: прозрачный агар янтарного цвета.

Ростовые характеристики среды для тестирования *Haemophilus* проверяли на следующих штаммах:

Штаммы	Результаты культивирования через 18 - 24 ч при температуре 37°C в атмосфере CO2
<i>Haemophilus influenzae</i> CIP 52.151	Удовлетворительный рост
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247	Удовлетворительный рост

9. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

10. Ограничения

- Для получения достоверных результатов всегда использовать чистую свежую культуру.
- Некоторые штаммы *H. influenzae* требуют большей чем обычно концентрации фактора X (гемина) и могут не расти на этой среде или давать скудный рост.
- На результаты исследования влияют множество факторов (размер инокулюма, атмосфера инкубирования, продолжительность и т.д.). Необходимо строго соблюдать методику, описанную NCCLS или CA-SFM.

11. Список литературы

1. Jorgensen, J.H., J.S. Redding, L.A. Maher, and A.W. Howell. 1987. Improved medium for antimicrobial susceptibility testing of *Haemophilus influenzae*. J. Clin. Microbiol. 25:2105-2113.
2. Jorgensen, J.H., A.W. Howell, and L.A. Maher. 1990. Antimicrobial susceptibility testing of less commonly isolated *Haemophilus* species using *Haemophilus* test medium. J. Clin. Microbiol. 28:985-988.
3. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 2000. Approved standard: M2-A7. Performance standards for antimicrobial disks susceptibility tests, 4th ed. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa.

IVD

1. Сфера применения

Агар Колумбия с 5% кровью барана используется как среда для первичного посева и субкультивирования всех типов образцов

2. Принцип

Рост большинства бактерий обеспечивается питательными веществами, содержащимися в смеси пептонов. Питательные вещества необходимые для роста требовательных бактерий содержатся в бараньей крови.

3. Фасовка

Готовая к использованию среда:

Кат. № 63784

Упаковка 20 чашек Петри (90 мм)

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Агар Колумбия соответствует среде Q Европейской фармакопеи(1):

Пептоны	18
Крахмал	1
Дрожжевой экстракт	5
Хлорид натрия	5
Агар	10

В агар Колумбия добавлена 5% кровь барана.

5. Хранение

Готовая к использованию среда: Хранить при +2-8°C .

Срок годности и номер серии указан на упаковке.

6. Методика:

• Поставляемый материал: Агар Колумбия с 5% кровью барана.

Инокуляция:

Инокулировать штрихованием непосредственно с образца (мазки из ротовой полости, стул, моча).

Следовать указаниям по хранению биологического материала.(2)

Инкубация:

Инкубировать в течение 24ч при температуре 37°С. Возможно инкубирование в микроаэрофильной или анаэробной атмосфере в зависимости от типа образца.

Считывание:

Внешний вид колоний:

- Enterobacteriaceae и Staphylococci: гладкие колонии 2-4 мм. в диаметре.
- Streptococci: мелкие колонии 0,5-1 мм в диаметре

Гемолитические характеристики:

- Нет гемолиза: окраска среды не меняется
- α Гемолиз: Наличие вокруг колонии зеленоватой зоны со смазанными краями.
- β Гемолиз: Наличие вокруг колонии чистой зоны с четко очерченными контурами.

7. Внешний вид/ Контроль качества

- Внешний вид готовой среды: Непрозрачный вишнево-красный агар.
- Ростовые характеристики агара Колумбия с 5% кровью барана проверяли на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24 часа при 37°С
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Хороший рост β Гемолиз
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Хороший рост, зеленоватый α Гемолиз
<i>Enterococcus faecalis</i> var <i>zymogenes</i> ATCC 29212	Хороший рост, нет гемолиза
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13077 (CO2)	Хороший рост, нет гемолиза

8. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

9. Ограничения

- Enterococci обычно показывают α Гемолиз на агаре с бараньей кровью.

- Haemophilus spp. (особенно H. haemolyticus), Neisseria gonorrhoeae, Legionella spp., Lactobacillus spp. Lactobacillus spp. плохо растут на этой среде. (3)
- Для идентификации изолятов проводить дополнительные тесты.

0. Список литературы

Pharmacopée Européenne. Addendum 4.2 de la 4^e édition. 2002.

Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.

ARTMAN M., FRANKL G. Nicotinamide adenine dinucleotide and nicotinamide adenine dinucleotide phosphate splitting enzyme(s) of sheep and rabbit erythrocytes : their effect on the growth of haemophilus. Can. J. Microbiol., 1982, 28 : 696-702.

VD

Сфера применения

Шоколадный агар, обогащенный поливитаминной добавкой (PVS) предназначен для изолирования требовательных бактерий, таких как *Neisseria* (гонококки и менингококки) и *Haemophilus*.

Принцип

Рост большинства бактерий усиливается питательными веществами, внесенными в среду, и гемоглобином – источником факторов V и X, необходимых для роста требовательных бактерий.

3. Фасовка

Готовая к использованию среда:

Кат. № 63934

коробки с 20 чашками (90 мм) (маркировка CHOC)

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Шоколадный агар приготовлен по формуле Johnson с добавлением поливитаминной добавки:

Панкреатический перевар казеина	7,5
Мясо-пептонный перевар	7,5
Кукурузный крахмал	1
Гидрофосфат калия	4
Дигидрофосфат калия	1
Хлорид натрия	5
Гемоглобин	10
Агар	15

5. Хранение

Готовая среда: при +2-8°C в темном месте.

Срок годности и номер серии указан на упаковке.

6. Методика:

• Поставляемый материал: Шоколадный агар с поливитаминной добавкой.

Инокуляция:

Перед инокуляцией среду нагреть до 37°C в термостате.

Инокулировать штрихованием непосредственно тампоном после отбора материала.

Следовать указаниям по хранению биологического материала.

Инкубация:

Инкубировать в атмосфере CO₂ в течение 24 ч при температуре 37°C.

Считывание:

• Neisseria - **Gonococci**: серые колонии, 0.5 - 1 мм в диаметре. Через 48 ч колонии становятся крупнее и принимают выпуклую форму..

- **Meningococci**: прозрачные клоны с серым оттенком с четким краем и немного крупнее, чем колонии гонококков, некоторые с ослизнением.

• Haemophilus - мелкие (0.5 - 1 мм в диаметре) слизистые полупрозрачные серые колонии.

7. Внешний вид/ Контроль качества

- Внешний вид: агар шоколадного цвета.
- Ростовые характеристики шоколадного агара с поливитаминной добавкой проверяли на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24 - 48 часов при 37°C
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 19424 (CO ₂)	Хороший рост
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13077 (CO ₂)	Хороший рост
<i>Haemophilus influenzae</i> CIP 52151 (CO ₂)	Хороший рост

8. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

9. Ограничения

- Для идентификации изолятов проводить дополнительные тесты.

10. Список литературы

- JOHNSON, J. 1945. Comparison of gonococcus cultures read at 24 and 48 hours. J. Venera. Dis. Inform. 26 : 239.
- Basic Laboratory Procedures Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991.

Шоколадный агар с поливитаминной добавкой и бацитрацином

63947

Среда для выделения Haemophilus

IVD

1. Сфера применения

Шоколадный агар с поливитаминной добавкой и бацитрацином это среда для выделения Haemophilus.

2. Принцип

Селективность среды обеспечивается присутствием бацитрацина, который ингибирует рост большинства Грам-положительных и Грам-отрицательных кокков.

Рост Haemophilus обеспечивается питательными веществами содержащимися в агаре и гемоглобином, источником факторов V и X необходимых для роста Haemophilus.

3. Фасовка

Готовая к использованию среда: Упаковка 20 чашек Петри

Кат. № 63947

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Шоколадный агар приготовлен по формуле Johnson., с добавлением поливитаминной добавки и бацитрацина.

Основа шоколадного агара:

Панкреатический перевар казеина	7,5
Мясо-пептонный перевар	7,5
Кукурузный крахмал	4
Фосфат калия	4
Дигидрофосфат калия	1
Хлорид натрия	5
Гемоглобин	10
Агар	15

Хранение

готовую к употреблению среду хранить при +2-8°C в темном месте
рок годности и номер серии указан на упаковке.

Методика:

Поставляемый материал: Шоколадный агар с поливитаминной добавкой и бацитрацином.

Инокуляция:

Перед инокуляцией среду нагреть до 37°C в термостате.
Инокулировать штрихованием непосредственно тампоном после отбора материала.
Следовать указаниям по хранению биологического материала.

Инкубация:

Инкубировать в CO₂ в течение 24ч при температуре 37°C.

Считывание:

- Haemophilus
Серо-зеленые, полупрозрачные, маленькие (0,5-1 мм в диаметре), слизистые колонии.

7. Внешний вид/Контроль качества

Внешний вид среды готовой к использованию: агар шоколадного цвета
Ростовые характеристики среды проверялись на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24 часов при 37°C.
<i>Haemophilus influenzae</i> ATCC 49247*	Хороший рост
<i>Haemophilus influenzae</i> CIP 52151	Хороший рост
<i>Haemophilus parainfluenzae</i> CIP A62*	Нет роста
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC	Нет роста
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 19433	Нет роста

* в CO₂ атмосфере

8. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

9. Ограничения

- Для идентификации изолятов проводить дополнительные тесты.
- Некоторые штаммы *Haemophilus* могут не расти на этой среде, из-за повышенных требований к составу среды.

10. Список литературы

1. JOHNSON, J. 1945. Comparison of gonococcus cultures read at 24 and 48 hours. J. Venera. Dis. Inform. 26 : 239.
2. Basic Laboratory Procedures Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.

селективный агар для изолирования Грам «+» бактерий

VD

Сфера применения

Агар Колумбия с кровью барана и селективной добавкой CNA (колистин и налидиксовая кислота) – селективная среда для изолирования Грам «+» бактерий. Он также используется для оценки гемолитических свойств. Эта среда используется для анализа образцов со смешанной микрофлорой, например, из урогенитального тракта или носоглотки.

Принцип

Селективность среды основано на присутствии смеси антибиотиков (колистина и налидиксовой кислоты), которые ингибируют рост Грам «-» бактерий. Рост большинства Грам «+» бактерий стимулируется присутствием крови барана в среде.

Фасовка

• Готовая к использованию среда: коробка с 20 чашками Петри 90 мм Кат. № 63954 (маркировка **CSB CNA**)

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Агар Колумбия с CNA и 5% крови барана приготовлен по формуле, описанной Ellner *et al.*

Специальная смесь пептонов	23
Крахмал	1
Хлорид натрия	5
Налидиксовая кислота	0,015
Колистин	0,01
Агар	10
Дефибринированная кровь барана	5 %

5. Хранение

• Готовая к использованию среда: при температуре +2-8°C. Срок годности и номер лота указаны на упаковке.

6. Методика

• Поставляемый материал: агар Колумбия с CNA и 5% крови барана.

Инокуляция:

Инокулировать штрихом непосредственно исследуемым клиническим материалом.

ологические образцы хранить в соответствии с регламентирующими документами.

кубация:

кубировать в течение 24...48 ч при температуре 37°C в нормальной атмосфере или CO2.

итывание:

лонии микроорганизмов имеют следующие гемолитические свойства:

нет гемолиза: нет изменения цвета агара вокруг колонии.

α-гемолиз: зеленая зона вокруг колонии с нечеткими очертаниями.

β-гемолиз: прозрачная зона вокруг колонии с четким контуром.

Характеристики/ контроль качества

Внешний вид готовой к использованию среды: вишнево-красный агар.

Ростовые характеристики агара Колумбия с CNA и 5% крови барана проверяли на следующих штаммах:

Штаммы	Результаты культивирования через 24...48 ч при температуре 37°C
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Хороший рост, β-гемолиз
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Хороший рост, α-гемолиз
<i>Enterococcus faecalis</i> var <i>zymogenes</i> ATCC 29212	Хороший рост, нет гемолиза
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090 (CO2)	Нет роста
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Нет роста
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Нет роста

8. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

9. Ограничения

- Некоторые штаммы могут не расти на этой среде из-за повышенных питательных потребностей.
- Некоторые *Enterobacteriaceae*, такие как *Proteus*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Klebsiella*,

стойчивые к колистину и налидиксовой кислоте могут не ингибировать селективной добавкой.

Ингибирующий эффект среды снижается при инокулировании ее излишним количеством микроорганизмов.

Диаметры колоний различных микроорганизмов, растущих на этой среде обычно меньше, чем колонии тех же микроорганизмов на агаре Колумбия с кровью, но без ингибирующей смеси.

Для идентификации штаммов изолированных на этой среде необходимо проводить дополнительные тесты.

10.Список литературы

1. ELLNER, D., STOESSEL, C. J., DRAKEFORD, E., VASI, F. 1966. *A new culture medium for medical bacteriology*. American Journal of Clinical Pathology. **45** : p. 502-504.
2. Basic Laboratory Procedures in clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.
3. HERMANN G.J., MOORE M.S., PARSONI I. 1958. American Journal of Clinical Pathology. **29** : p. 181-183.
4. THAYER J.D., MARTIN J.E. 1966. *Improved medium selective for Neisseria gonorrhoeae and Neisseria Meningitidis*. Public Health Report. **81** : p. 559-562



Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33

CE

11/2003

SELENITE – CYSTINE BROTH (broth base and complete broth)

СЕЛЕНИТОВЫЙ БУЛЬОН (основа для бульона и готовый к применению бульон)

Основа для бульона

- дегидратированный основа бульона код: 64074

Готовый бульон

- 5 пробирок по 20 мл бульона код: 55745
- флакон 100 мл код: 54075

ФОРМУЛА (в граммах на 1 литр дистиллированной воды)

основа для бульона

- | | |
|--------------------|-------|
| • триптон | 5 |
| • лактоза | 4 |
| • двунатрий фосфат | 10 |
| • L-цистеин | 10 мг |

полная формула бульона

к бульонной основе добавляется:

- селенитово-кислый натрий 4

финальная рН для всех форм бульона: 7.0 ± 0.1 .

ПРИГОТОВЛЕНИЕ (дегидратированная форма)

БУЛЬОННАЯ ОСНОВА

- Растворите в 1 литре дистиллированной воды 19 г бульонной основы, Перемешивая до достижения гомогенности нагрейте до температуры кипения и не допуская кипячения выдержите в течение 5 минут
- Охладите и добавьте 4г кислого селенита натрия
- Разлейте в стерильных условиях по 20 мл пробиркам.

БУЛЬОН С ПОЛНОЙ ФОРМУЛОЙ

- Добавьте 23 г дегидратированного бульона в 1 литр дистиллированной воды.

Дальнейшие шаги идентичны для всех форм бульона:

- Осторожно нагревайте смеси, постоянно их помешивая, до полного растворения.
- При необходимости доведите рН бульонов до величины 7.0.
- Разлейте бульоны в пробирки по 10 мл в каждую.
- Стерилизуйте в водяной бане, или в струе пара в течение 10 минут.
- НЕ АВТОКЛАВИРОВАТЬ!!!

NB! Среды, приготовленные с соблюдением всех этих правил, могут храниться в тщательно закупоренных пробирках при температуре $+4^{\circ}\text{C}$ в течение нескольких месяцев.

ПРИМЕНЕНИЕ

Инокуляции подлежат суспензии кала, разведения мочи или продукты питания, в объемах равных 10-20% от используемого объема среды. Тщательно гомогенизируйте полученную смесь.

КЛИНИЧЕСКАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ.

Инкубируйте инокулят при температуре +37° С от 18 до 24 часов. Увеличение температуры инкубации до 42° С благоприятно для роста *S. paratyphi B* (Harvey, 1955), но не для *S. Typhi*.

Субкультивировать можно на селенитовую агаровую среду, на дезокси-холат-лактозный агар или на SS агар.

Инокулируйте хорошо изолированные колонии бактерий, давшие рост после вышеуказанных процедур, на комбинированных средах для *Enterobacteriaceae*, а именно на среде Kligler, Mannitol-Motility-Nitrate, и Urea-Indole agar.

САНИТАРНАЯ БАКТЕРИОЛОГИЯ

Инкубируйте инокулят при температуре + 42° С в течение 24-х, 48-ми и 72 часов. Данный режим благоприятен для *Salmonella*, и характеризуется быстрым ростом колоний, в то же время он неблагоприятен для *Proteus*, рост которого угнетается (но не подавляется!!).

ОБРАТИТЕ ВНИМАНИЕ!!!

Как для большинства сред обогашения для *Salmonella*, данная среда создает благоприятные условия для мультипликации бактерии и ингибирует рост многочисленных колиформ. Тем не менее, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, и некоторые лактоза (-) разновидности *Escherichia* часто способны избегать данного подавляющего роста эффекта. Данная среда предохраняет от проростания Грам (+) бактерий. Некоторые штаммы *Shigella sonnei* могут быть изолированы на данной среде.

ХРАНЕНИЕ

Готовые к применению формы хранятся при температуре +2-8° С. Дегидратированная форма среды хранится в сухом и прохладном месте. Сроки годности и номер серии указаны на упаковке.

РЕФФЕРЕНТНАЯ ЛИТЕРАТУРА

Harvey R.W.S. and Scott Thomson, Bull. Min. Hith. Pub. Hith. Lab. Ser., 1955, 12, 149-150.
Liefson E. Am. J. Hyg., 1936, 24, 423-432.

TRYPTO-CASEIN-SOY broth

Трипто-казеин-соевый бульон

Дегидратированный агар

- упаковка по 500 г

код: 64114

Трипто-казеин-соевый (TCS) бульон позволяет получать обильный рост большинства аэробных и анаэробных бактерий, включая и труднорастающих, без добавления таких питательных субстанций как сыворотка.

TCS бульон рекомендован Американской и Французской Фармакопеей для проверки стерильности фармацевтических продуктов. Форма выпуска по 100мл позволяет использовать агар для метода мембранной фильтрации.

Формула (в граммах на 1 литр дистиллированной воды)

• триптиновый гидролизат казеина	17
• соевый пептон	3
• хлорид натрия	5
• фосфат калия	2.5
• декстроза	2.5
финальная pH: 7.3+/- 0.2	

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

Поместите 30г порошка в 1 литр дистиллированной воды. Доведите до кипения до полного растворения агара. Тщательно перемешайте и разлейте по пробиркам. Стерилизуйте в автоклаве в течение 15 минут при 121С.

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

1. АЭРОБНОЕ КУЛЬТУРИРОВАНИЕ

Позволяет получать рост аэробных, факультативно аэробно-анаэробных бактерий и некоторых грибов (в частности *Candida albicans*)

Рекомендуется тщательнее следить за ростом бактерий, т.к. на данной среде рост получается много раньше, чем на других средах.

2. АНАЭРОБНОЕ КУЛЬТУРИРОВАНИЕ

Добавление агара (0.5-1.0 г на 1 литр) позволяет получать рост таких анаэробных бактерий, как *Clostridium perfringens*.

3. КУЛЬТУРА КРОВИ

Лучше перед использованием данной среды в указанных целях добавить в нее антикоагулянт (цитрат натрия). Инокулируемый материал не должен превышать 10%-20% от общего объема среды. При подозрении на *Brucella?* *S.pneumoniae?* необходимо инкубировать среду в обогащенной CO₂ атмосфере.

4. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ БАКТЕРИЙ К АНТИБИОТИКАМ

Данный агар можно использовать для определения антибиотической чувствительности бактерий методом разведения.

ХРАНЕНИЕ

Готовый к применению агар хранить при +2-8С.

Дегидратированный агар хранят в тщательно закрытом контейнере в темном и прохладном месте.

IVD

1. Сфера применения

Сердечно-мозговой агар - это обогащенная среда, рекомендованная для выращивания большинства требовательных бактерий. При добавлении стерильной лошадиной крови и смеси антибиотиков (ванкомицин, колистин, фунгизон) эта среда может использоваться для выращивания *Neisseria gonorrhoeae*.

2. Принцип

Рост большинства бактерий происходит за счет питательных веществ содержащихся в гидролизате пептона, вытяжке из мозга теленка, вытяжке из бычьего сердца и благодаря присутствию глюкозы.

3. Фасовка

Дегидратированная среда:

Кат. № 64174

Упаковка 500 гр.

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Сердечно-мозговой агар приготовлен по формуле Rosenow и улучшен для получения оптимальных результатов:

Гидролизат пептона	10
Вытяжка из мозга теленка	2,5
Вытяжка из бычьего сердца	5
Хлорид натрия	4
Фосфат натрия	2,5
Глюкоза	2
Агар	10

Приготовление среды:

Гомогенизируйте порошок, содержащийся в бутылке.

Добавьте 47 грамм дегидратированной среды к 1 литру дистиллированной воды. Медленно нагрейте при постоянном помешивании, затем доведите до кипения, до полного растворения

среды. Доведите рН до 7,4 при необходимости. Простерилизуйте среду в автоклаве в течение 15 минут при 121°C. Разлейте среду по бутылкам, чашкам Петри и т.д.

Приготовление кровяного агара:

- Добавьте 5% стерильной лошадиной крови к расплавленной стерильной основе, охлажденной до 45°C.
- После перемешивания аккуратно разлейте среду по чашкам, избегая образования пузырьков.

Приготовление шоколадного агара:

- Добавьте 5% стерильной лошадиной крови к основе агара.
- Перемешивайте в течение 10 минут при температуре 80°C. до появления «шоколадной» окраски. Разлейте среду по чашкам.

5. Хранение

Дегидратированная среда: тщательно закрытую бутылку хранить при +15-25°C в сухом месте. Срок годности и номер серии указан на упаковке.

6. Методика:

- Поставляемый материал: Сердечно-мозговой агар.

Инокуляция:

Перед инокуляцией среду нагреть до 37°C в термостате.

Инокулировать штрихованием непосредственно тампоном после отбора материала.

Следовать указаниям по хранению биологического материала.

Инкубация:

Инкубировать в течение 24-48 ч при температуре 37°C.

Считывание:

- *Neisseria* - **Gonococci**: серые колонии, 0.5 - 1 мм в диаметре. Через 48 ч колонии становятся крупнее и принимают выпуклую форму..
 - **Meningococci**: прозрачные клони с серым оттенком с четким краем и немного крупнее, чем колонии гонококков, некоторые с ослизнением.
- *Haemophilus* - **мелкие** (0.5 - 1 мм в диаметре) слизистые полупрозрачные серые колонии.

7. Внешний вид/ Контроль качества

- Внешний вид: бежевый порошок.
- Ростовые характеристики сердечно-мозгового агара проверяли на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24 - 48 часов при 37°C
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Хороший рост
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Хороший рост
<i>Clostridium perfringens</i> ATCC 13124	Хороший рост
<i>Bacteroides vulgatus</i> ATCC 8482	Хороший рост

Ростовые характеристики сердечно-мозгового агара с 5% лошадиной крови (кровяного агара) проверялись на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24 - 48 часов при 37°C
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Хороший рост, β гемолиз
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Хороший рост, гемолиз
<i>Clostridium difficile</i> CIP 104282 (CO ₂)	Хороший рост

8. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

9. Ограничения

- Некоторые штаммы могут не расти на этой среде, из-за повышенных требований к составу среды.
- Для идентификации изолятов проводить дополнительные тесты.

10. Список литературы

1. ROSENOW E.C. 1919. Studies on elective localization. J. Dent. Research. 1 : 205-249.
2. Basic Laboratory Procedures Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.

Селективный агар для лактобактерий

VD

1. Сфера применения

Среда предназначена для обнаружения и подсчета колоний молочнокислых бактерий при 37°C.

2. Принцип

Для роста лактобактерий в качестве источника питательных веществ использованы бактериологический пептон и мясной экстракт, а в качестве источника питания глюкоза. Цитрат аммония и ацетат натрия ингибируют рост остальных бактерий

3. Фасовка

• Готовая к использованию: 5 пробирок по 10 мл

Кат. № 54495

• Сухая: 500 г

64244

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Пептон бактериологический	10 г
Мясной экстракт	10 г
Дрожжевой экстракт	5 г
Ацетат натрия	5 г
Гидрофосфат калия	2 г
Цитрат аммония	2 г
Сульфат магния	200 мг
Сульфат марганца	50 мг
Глюкоза	20
Твин 80	1 мл
Агар	13 г
Дистиллированная вода	1000 мл

Итоговый pH при температуре 25°C $6,5 \pm 0,2$

Продукты, не входящие в комплект поставки

- Растворы для разведения

- Дистиллированная вода

Необходимое оборудование (не поставляется)

- Мерные цилиндры
- Стерильные пакеты (при тестировании продуктов)
- Измельчитель (при тестировании продуктов)
- Водяная баня
- Миксер
- Автоклавлируемые флаконы на 125 мл с крышками
- Стерильные чашки Петри 90 мм
- Стерильные пипетки
- Водяная баня с точностью до 1°C
- Инкубатор с точностью до 1°C
- автоклав
- Общелабораторное оборудование

5. Хранение

Готовая к использованию среда: + 2° - 8°C.

Сухая среда: + 15° - 25°C, в плотно закрытой банке в сухом прохладном месте.

Срок годности и номер лота указаны на упаковке.

6. Методика

Приготовление из сухой среды

Всегда перемешивать порошок перед использованием!

Растворить 68 г порошка в 1 л дистиллированной воды, перемешать до получения однородной суспензии. Медленно нагреть, постоянно помешивая. Довести до кипения и полного растворения осадка. Разлить по 100 во флаконы и стерилизовать автоклавированием при 121°C в течение 15 минут.

Расход сухой среды: 68 г/л

500 г сухой среды позволяет получить 7,3 л готовой к использованию среды

Приготовить образец в соответствии с нормативными документами

Инокуляция и инкубация

Перенести по 1 мл исследуемого образца или его десятикратного разведения на 2 стерильных чашки Петри. Залить 15 мл расплавленного и охлажденного до 44 - 47°C агара в каждую чашку. Перемешать и оставить застывать. Сверху залить еще 5 мл расплавленного агара (двухслойный метод) в каждую чашку.

Инкубировать при температуре 25°C или 37°C в течение 48 - 72 ч

Считывание и интерпретация

Подсчитать колонии на чашке с общим количеством в интервале 30-300.

7. Предупреждения

Время прошедшее между приготовлением образца и его десятикратными разведениями и перемешиванием с расплавленным агаром на чашке не должно превышать 15 минут.
Соблюдать правила образцовой лабораторной практики.

8. Характеристики/ контроль качества

Ростовые характеристики агара проверяли на следующих штаммах:

Штаммы	Результаты культивирования через 48 ч при температуре 30°C	анаэробного
Lactobacillus casei ATCC 9595	+	
Lactobacillus fermentum ATCC 9338	+	
Lactobacillus plantarum ATCC 8014	+	
Lactobacillus bulgaricus CIP 55.1	+	
Lactobacillus leichmanii ATCC 4797	+	
Lactobacillus spp. ATCC 11506	+	

9. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствие с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

10. Список литературы

1. DE MAN J.C., ROGOSA M. and SHARPE M.E. (1960) : A medium for the cultivation of lactobacilli. Journal of Applied Bacteriology 23 (1) : 130



Bio-Rad
3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel : +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax : +33 (0) 1 47 41 91 33



SALMONELLA- SHIGELLA (SS) AGAR (САЛЬМОНЕЛЛА-ШИГЕЛЛА АГАР)

Готовый к применению агар

- | | |
|-------------------------|-----------|
| • флакон с 25 мл агара | код 62711 |
| • флакон с 100 мл агара | код 62713 |
| • флакон с 225 мл агара | код 62712 |

Дегидратированный агар

- | | |
|--------------------|-----------|
| • упаковка по 500г | код 64514 |
|--------------------|-----------|

SS агар является твердой селективной средой, предназначенной для изоляции *SALMONELLA*- и *SHIGELLA*. Данная среда полностью подавляет рост Грамм (+) бактерий и частично ингибирует рост многочисленных колиформ и *Proteus*.

ФОРМУЛА (в граммах на 1 литр дистиллированной воды)

- | | |
|-------------------------|--------|
| • пептон | 5 |
| • экстракт говядины | 5 |
| • желчные соли | 4.2 |
| • цитрат натрия | 10 |
| • тиофосфат натрия | 8.5 |
| • цитрат железа | 2 |
| • лактоза | 10 |
| • нейтральный красный | 0.025 |
| • бриллиантовый зеленый | 0.0003 |
| • агар | 12 |

финальная pH: 7.3 ± 0.2

ПРИГОТОВЛЕНИЕ

(Дегидратированная форма)

Смешайте 56.7 г навески с 1 литром дистиллированной воды. НЕ АВТОКЛАВИРОВАТЬ!!! Доведите суспензию до кипения при постоянном помешивании, добившись полного растворения взвеси. Охладите до 50°C ⁽¹⁾ . Перемешайте и разлейте в чашки Петри.

⁽¹⁾ **Очень важное замечание!!!** Соблюдайте основное правило приготовления агара, а именно: количество дистиллированной воды, используемое при приготовлении готового агара измеряют после кипячения и охлаждения суспензии. Не соблюдение этого требования приводит к тому, что часть объема воды испаряется во время кипения, и концентрация составных частей агара в этом случае не соответствует теоретически рассчитанной, что приводит к абнормальному ингибированию роста культур на данном агаре!!!

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ

SS агар может быть использован для изоляции *Salmonella* и *Shigella* из фекальных проб и продуктов питания. Инокулировать лучше всего на двух чашка, содержащих данный агар (или одна чашка- SS агар; вторая чашка- DCLS агар (дезоксихолат-цитрат- лактоза-сахарозный агар). Перед инокуляцией приготовьте тщательно гомогенизированную эмульсию материала, предназначенного для исследования.

Неотъемлемым правилом исследований на обнаружении *Salmonella* и *Shigella* в пробах является также посев в параллели на следующих агарах:

- среда,содержащая селенит натрия
- среда, содержащая тетрациклат+ новобиоцин (или среда Мюллер-Кауфмана)

Инкубировать инокулированные чашки необходимо при температуре +37°C в течение 24-х часов. На следующий день после первичной инокуляции необходимо провести субкультивирование на две чашки, содержащие сред у обогащения с двух чашек с SS агаром. Продлите инкубирование еще на 24 часа. Если после 48-ми часовой инкубации не обнаружено роста бактерий ни в одной из чашек, необходимо повторить изоляцию первичной эмульсии и среды обогащения.

ОЦЕНКА И ТРАКТОВКА РЕЗУЛЬТАТОВ РОСТА

Колонии, которые появляются на данном агаре после 48-ми часовой инкубации, в основном имеют следующие типичные характеристики ,причем даже после 24-х часовой инкубации очень легко различаются лактоза(+) и лактоза(-) колонии,

Морфология колоний	Б/х характеристик и	Микроорганизмы
колонии красного цвета	лактоза(+)	<i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i>
бесцветные прозрачные	лактоза(-)	<i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Serratia-Yersinia</i> <i>Hafnia alvei</i> <i>Proteus morganii</i> <i>E.coli</i> , предпол. <i>alkalescens</i> , <i>dispar</i>
колонии с оранжевым центром	-	<i>Proteus rettgeri</i> <i>Providencia</i>
колонии с черным центром	-	<i>Salmonella</i> <i>S.arizona</i> <i>Citrobacter</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Proteus mirabilis</i>

(Колонии *Proteus vulgaris* и *Proteus mirabilis* не перенасыщают поверхность данного агара)

ХРАНЕНИЕ

Готовый к применению агар хранят при температуре +2-8°C в темном месте. Дегидратированный агар хранят в тщательно закрытой упаковке в прохладном и сухом месте. Срок годности и номер серии указаны на упаковке.

Среда для изолирования требовательных бактерий

IVD

1. Сфера применения

Среды, приготовленные с использованием основы кровяного агара, позволяют выращивать требовательные бактерии и изучать их гемолитические характеристики в отсутствие формирования пигмента.

2. Принцип

Расщепленные пептоны, дрожжевой и мясной экстракты являются источником углерода, витаминов, азота и аминокислот, необходимых для роста бактерий. Добавление свежей крови привносит ростовые факторы, необходимые для роста требовательных микроорганизмов. Среда обычно используется в виде кровяного агара со свежей кровью (лошади или барана) или шоколадного агара с прогретой кровью.

3. Фасовка

• Сухая среда, 500 г

Кат. № 64524

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Кровяной агар приготовлен по формуле Brown (1).

Расщепленный пептон	15
Мясной экстракт	2,5
Дрожжевой экстракт	2,5
Хлорид натрия	5
Агар	14

Приготовление среды:

Гомогенизировать порошок в банке. Внести 40 г сухой среды в 1 л дистиллированной воды. Нагреть до полного растворения осадка. Если необходимо, подвести pH до 7,3. Стерилизовать автоклавированием при температуре 121°C в течение 15 минут и разлить по чашкам Петри или флаконам.

Для приготовления кровяного агара:

• Добавить 5 или 10 % свежей стерильной крови барана или лошади в расплавленный при температуре 45°C агар..

Осторожно перемешать, избегая образования пузырьков и разлить по чашкам Петри или флаконам.

для приготовления шоколадного агара:

Добавить 10 % стерильной крови лошади в расплавленную основу агара.

Нагреть агар до 80°C и, медленно помешивая, дождаться изменения окраски агара на шоколадную. Разлить по чашкам Петри и флаконам.

Хранение

Сухая среда: в плотно закрытой банке в сухом месте при температуре +15-25°C. Срок годности и номер лота указаны на упаковке.

Методика:

Поставляемый материал: основа кровяного агара.

Не поставляемый материал:

- кровь лошади

- кровь барана

Инокуляция:

Инокулировать штрихом непосредственно клиническим материалом. При хранении руководствоваться соответствующими документами (2).

Инкубация:

Инкубировать 24 - 48 ч при температуре 37°C, в микроаэрофильной или анаэробной атмосфере, в зависимости от типа исследуемого микроорганизма.

Считывание:

Гемолитические характеристики колоний:

- нет гемолиза: сохранилось первоначальное окрашивание среды.
- альфа-гемолиз: зеленая зона с размытыми краями вокруг колонии.
- бета-гемолиз: прозрачна зона с четкими краями вокруг колонии.

7. Контроль качества

- Внешний вид сухой среды: бежевый порошок.
- Ростовые характеристики колумбийского агара в добавлении 5 % свежей крови лошади проверяли на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24...48 ч при 37°C
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Хороший рост, бета-гемолиз
<i>Enterococcus faecalis</i> var <i>zymogenes</i>	Хороший рост, бета-гемолиз

TCC 29212	
<i>Streptococcus bovis</i> CIP 56.23	Хороший рост, нет гемолиза
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Хороший рост, зеленый альфа-гемолиз
<i>Neisseria meningitidis</i> (+ CO2) ATCC 3090	Хороший рост, нет гемолиза
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Хороший рост, слабый бета-гемолиз

Основные характеристики колумбийского агара в добавлении 5 % крови лошади (шоколадный агар) проверяли на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24...48 ч при 37°C
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Хороший рост
<i>Streptococcus pneumoniae</i> CIP A146	Хороший рост
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (+ CO2) ATCC 4924	Хороший рост
<i>Neisseria meningitidis</i> (+ CO2) ATCC 3077	Хороший рост
<i>Haemophilus influenzae</i> (+ CO2) CIP 52151	Хороший рост

8. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

9. Ограничения

- Некоторые штаммы могут не расти на этой среде из-за их повышенных питательных потребностей.
- Гемолитические особенности некоторых штаммов стрептококки группы D зависят от типа используемой крови: бета-гемолиз на крови лошади, человека и кролика, альфа-гемолиз на крови барана.
- Колонии *Haemophilus haemolyticus*, дающие бета гемолиз на крови лошади и кролика, необходимо дифференцировать от бета-гемолитические стрептококков с помощью других тестов. Для этой цели лучше использовать кровь барана, ингибирующую рост *Haemophilus haemolyticus*

Атмосфера инкубации влияет на бета-гемолитические реакции стрептококков. Их рекомендуется выращивать в атмосфере CO₂ или других анаэробных условиях.

Для идентификации изолированных штаммов использовать дополнительные тесты.

0. Список литературы

BROWN, J.H.. 1919. The use of blood agar for the study of streptococci, NY Monograph No. 1. The Rockefeller Institute for Medical Research.

Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.



1. Сфера применения

Кровяной агар с добавлением налидиксовой кислоты это селективная среда для изоляции Streptococci (включая *S.pneumoniae*), *Listeria monocytogenesis* и *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

2. Принцип

Селективность среды достигается благодаря присутствию налидиксовой кислоты которая подавляет рост Грам-отрицательных бактерий и некоторых стафилококков.

3. Фасовка

Дегидратированная среда: Кат. № 64534
 Упаковка 500 гр.

4. Состав (г/л дистиллированной воды)

Сердечно-мозговой агар приготовлен по формуле Brown (1) с добавлением налидиксовой кислоты:

Пептон	15
Мясной экстракт	2,5
Дрожжевой экстракт	2,5
Хлорид натрия	5
Агар	14
Налидиксовая кислота	0,040
Финальный pH среды	7,3±0,2

Приготовление среды:

Гомогенизируйте порошок содержащийся в бутылке.
 Добавьте 40 грамм дегидратированной среды к 1 литру дистиллированной воды.
 Подождите 5 минут, затем перемешайте до образования гомогенной суспензии. Медленно

агрейте при постоянном помешивании, затем доведите до кипения, до полного растворения
еды. Простерилизуйте среду в автоклаве в течении 15 минут при 121°C. Разлейте среду
о бутылкам, чашкам Петри и т.д.
добавьте от 5% до 10% стерильной овечьей или лошадиной крови к расплавленной
стерильной основе, охлажденной до 45°C. После перемешивания аккуратно разлейте среду
о чашкам, избегая образования пузырьков.

Хранение

егиратированная среда: тщательно закрытую бутылку хранить при +15-25°C в сухом месте.
рок годности и номер серии указан на упаковке.

Методика:

Поставляемый материал: Кровяной агар с налидиксовой кислотой

нокуляция:

нокулировать штрихованием непосредственно клиническим материалом.

следовать указаниям по хранению биологического материала.(2)

нкубация:

нкубировать в течение 24ч при температуре 37°C.

читывание:

емолитические характеристики колоний:

- отсутствие гемолиза: цвет среды остается неизменным
- α гемолиз: зеленоватая зона со смазанными краями вокруг колонии.
- β гемолиз: чистая зона с четко очерченными краями вокруг колонии.

Внешний вид/ Контроль качества

Внешний вид: бежевый порошок.

Ростовые характеристики сердечно-мозгового агара проверяли на следующих

штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24 часа при 37°C
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Хороший рост, β гемолиз
<i>Enterococcus faecalis</i> var <i>zymogenes</i> ATCC 29212	Хороший рост, β гемолиз
<i>Streptococcus bovis</i> CIP 56.23	Хороший рост, отсутствие гемолиза

<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Хороший рост, α гемолиз
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Нет роста
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Частичное подавление роста
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	Частичное подавление роста

9. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

Ограничения

- Некоторые штаммы могут не расти на этой среде, из-за повышенных требований к составу среды.
- Гемолитические характеристики некоторых штаммов стрептококков группы D могут подавляться в зависимости от используемой крови: β гемолитические на лошадиной, кроличьей или человеческой крови, α гемолитические на овечьей крови.
- Для идентификации изолятов проводить дополнительные тесты.

10. Список литературы

BROWN, J.H. 1919. The use of blood agar for the study of streptococci, NY Monograph N°9. The Rockefeller Institute for Medical Research.

Basic Laboratory Procedures Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.

Обогащительная среда для требовательных бактерий

IVD

Сфера применения

Колумбийский агар является высокопитательной средой, используемой для первичного культивирования и субкультивирования всех типов образцов. Он используется для выращивания *Brucella abortus*, *Yersinia pestis*, и *Clostridium perfringens*. Для роста требовательных микроорганизмов необходимо добавлять свежую кровь лошади или согретую кровь (шоколадный агар).

Принцип

Рост большинства бактерий обеспечивается питательными веществами, полученными из смеси пептонов растительного и животного происхождения.

Фасовка

Сухая среда: банка 500 г

Кат. № 64674

Готовая к использованию: 20 чашек Петри 90 мм

Кат. № 63784

Состав (г/л дистиллированной воды)

Колумбийский агар соответствует среде Q Европейской фармакопеи (1).

Специальная смесь пептонов	23
Рахмал	1
Хлорид натрия	5
Агар	10

Приготовление среды:

Гомогенизировать порошок в банке. Внести 39 г порошка в 1 л стерильной дистиллированной воды. Медленно нагреть до кипения и полного растворения осадка. Привести pH до 7,3, если необходимо. Стерилизовать автоклавированием при температуре 121°C в течение 15 минут. Разлить по чашкам Петри или флаконам.

Для кровяного агара:

Добавить 5 % свежей крови лошади в расплавленную при температуре 45°C основу агара. После аккуратного перемешивания путем встряхивания (избегать образования пузырьков) разлить по чашкам Петри или флаконам.

Для шоколадного агара:

- Добавить 5 % свежей крови лошади в расплавленную основу агара.
- Постоянно помешивая, выдержать полученную смесь при температуре 80°C в течение 10 минут до появления шоколадного окрашивания. Разлить по чашкам Петри или флаконам.

6. Хранение

- Сухая среда: в плотно закрытой банке в сухом месте при температуре +15-25°C. Срок годности и номер лота указаны на упаковке.

7. Методика:

- Поставляемый материал: колумбийский агар.

Инокуляция:

Инокулировать штрихом непосредственно исследуемым клиническим материалом (мазок ротоглотки, кал, моча и т.д.). При хранении образцов следовать указаниям соответствующих регламентирующих документов (2).

Инкубация:

Инкубировать 24 - 48 ч при температуре 37°C в микроаэрофильной и анаэробной атмосфере (в зависимости от типа исследуемого микроорганизма).

Считывание:

Внешний вид колоний:

- *Enterobacteriaceae* и *Staphylococci*: гладкие колонии 2-4 мм в диаметре.
- *Streptococci*: колонии 0,5-1 мм в диаметре.

7. Контроль качества

- Внешний вид сухой среды: бежевый порошок.
- Ростовые характеристики колумбийского агара проверяли на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24 - 48 часов при 37°C
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Хороший рост
<i>Streptococcus bovis</i> CIP 5623	Хороший рост
<i>Brucella melitensis</i> (+ CO2) CIP A128	Хороший рост
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	Хороший рост

- Ростовые характеристики колумбийского агара в добавлении 5 % свежей крови лошади проверяли на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24 часов при 37°C
-------	--

<i>Enterococcus faecalis</i> var <i>zymogenes</i> ATCC 29212	Гемолиз
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6303	Гемолиз с зленным окрашиванием
<i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	Гемолиз
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090 (+ CO ₂)	Нет гемолиза

Ростовые характеристики колумбийского агара в добавлении 5 % крови лошади (шоколадный агар) проверяли на следующих штаммах:

Штамм	Результаты культивирования через 24 часов при 37°C
<i>Neisseria meningitidis</i> ATCC 13090 (+ CO ₂)	Положительная культура
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> ATCC 19424 (+ CO ₂)	Положительная культура
<i>Haemophilus influenzae</i> CIP 52151 (+ CO ₂)	Положительная культура

8. Контроль качества производителя

Все производимые реагенты изготавливаются в соответствии с системой качества компании «Био-Рад», начиная с приема сырья и до продажи продукта. Любой лот поступает на рынок только после прохождения строгой процедуры контроля на предмет соответствия определенным критериям. Вся информация относительно продукта и его контроля хранится в компании «Био-Рад».

9. Ограничения

- Некоторые штаммы могут не расти на этой среде из-за их особенных питательных потребностей.
- Для идентификации изолированных штаммов использовать дополнительные тесты.

10. Список литературы

1. Pharmacopée Européenne. Addendum 4.2 de la 4e édition. 2002.
2. Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology. World Health Organization. Geneva. 1991. 1st edition.



Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France
Tel: +33 (0) 1 47 95 60 00
Fax: +33 (0) 1 47 41 91 33

CE

11/2003



ООО «BIO-RAD LABORATORII»
ООО «БИО-РАД ЛАБОРАТОРИИ»
125167 г. Москва, Ленинградский пр-т, д 37 А, корп 14
тел. (095) 721-14-04, факс. (095) 721-14-12

SIMMONS (sodium citrate medium) СИММОНС (среда с цитратом натрия)

Готовая среда

- 5 x 7 мл пробирки Код:61735

Дегидратированный агар

- 500 гр. коробка Код: 64834

Содержащий минимум солей цитратный агар используется для идентификации Грам отрицательных палочек. Он позволяет идентифицировать бактерии, которые способны использовать цитрат в качестве единственного источника углерода и энергии.

Формула (в граммах на литр дистиллированной воды)

- Цитрат натрия 1
- Хлорид натрия 5
- Сульфат магния 1
- Гидрофосфат калия 1
- Дигидрофосфат аммония 1
- Агар 15
- Бромтимоловый синий 0.08

pH=7.1+₋0.2

Приготовление

Поместить 23 гр. сухой среды в 1 литр дистиллированной воды. Перемешать и нагреть при энергичном непрерывном перемешивании до полного растворения. Кипятить 1 мин.

По необходимости довести pH.

Разлить по пробиркам и автоклавировать при 121⁰ С в течение 15 мин. Охлаждать в таком положении, чтобы получился плавный, без порогов наклон поверхности среды.

Использование

Эта среда должна быть засеяна культурой, выросшей на агаре. Нельзя пересевать культуру из бульона или пептонной воды, т.к. такие среды содержат элементы, способные исказить результаты анализа. Посев выполнять, нанося по центру поверхности среды продольную полоску. Инкубировать при 30 или 37⁰ С в течение от 1 до 7 дней. Ежедневно проверять культуру.

Результаты

“Цитрат положительные” бактерии окрашивают среду в синий цвет и дают обильную культуру.

“Цитрат отрицательные” бактерии не окрашивают среду в синий цвет и не образуют культуру даже в течение нескольких дней инкубации.

ЦИТРАТ (+)	ЦИТРАТ (-)	ЦИТРАТ(+/-) (в зависимости от биохимического типа)
<i>Salmonella</i>		
Суб-тип I (всегда)	<i>S.paratyphi A</i>	<i>S.paratyphi B: (+)</i>
<i>S.arizona SE III</i>	<i>S.typhi</i>	<i>S.typhimurium: (+)</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Edwardsiella</i>	<i>S. enetridis: (+)</i>
	<i>Esherihia coli</i>	
<i>Levinea</i>	<i>E.coli A.D.</i>	
	<i>Shigella</i>	
<i>P.rettgeri</i>	<i>P.morganii</i>	<i>P.mirabilis</i>
<i>Providencia</i>		<i>P.vulgaris</i>



ООО «BIO-RAD LABORATORII»
ООО «БИО-РАД ЛАБОРАТОРИИ»
125167 г. Москва, Ленинградский пр-т, д 37 А, корп 14
тел. (095) 721-14-04, факс. (095) 721-14-12

<i>K.pneumoniae</i>	<i>K.rhinoscleromatis</i>	<i>K.ozoenae</i>
<i>K.oxytoca</i>		
<i>Enetrobacter aerogenes</i>		
<i>K.cloacae</i>	<i>Hafnia alvei</i> (задержка утилизации при 22-30 ⁰ С)	
<i>E.agglomerans</i>		
<i>Serratia</i>		
	<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Aeromonas hydrophilia</i>
<i>Vibrio Cholerae</i>	<i>Y.pseudotuberculosis</i> (кроме серотипа 4)	<i>Vibrio</i> NAG
	<i>Plesiomonas shigelloides</i>	
<i>Ps.aeruginosa</i>		<i>Acinetobacter</i>
<i>Pseudomonas</i> (всегда)	<i>Ps.maltophilia</i>	
	<i>Pasteurella</i>	

(+) - положительный в большинстве случаев

Хранение

Готовая среда: при +2-8⁰ С в темном месте.

Дегидратированный агар: хранить плотноупакованным в сухом, темном месте.

io FM
io FM V.C.A.

70160
70161

СРЕДА ДЛЯ БЫСТРОЙ ИЗОЛЯЦИИ МИКОБАКТЕРИЙ / СЕЛЕКТИВНАЯ ДОБАВКА

VD

1. СФЕРА ПРИМЕНЕНИЯ

микобактерии это кислотоустойчивые палочки, растущие крайне медленно на обычных средах (Ловенштейн-Йенсен, элетсос, Мидлбрук 7Н10 и 7Н11): изоляция занимает от 2 до 8 недель.

ioFM это обогащенная среда, предназначенная для ускорения роста микобактерий.

ультуры, получаемые на среде BioFM, пригодны для дальнейшей идентификации и изучения антибиотикочувствительности.

2. ПРИНЦИП

BioFM — это неселективная среда Мидлброка 7Н9, обогащенная олеиновой кислотой, альбумином, декстрозой, каталазой и оптимизированная для роста микобактерий. BioFM позволяет изолировать микобактерии из всех видов биологических образцов.

Селективность среды BioFM обеспечивается путем внесения селективной добавки BioFM VCA (ванкомицин, колистин, амфотерицин В), ингибирующей рост Грам «-» и «+» микроорганизмов и дрожжей, содержащихся в большинстве патологических образцов.

Рост микобактерий обнаруживается по изменению цвета культуры на темно-синий или фиолетовый.

3. КОМПЛЕКТ ПОСТАВКИ

- Готовая к использованию среда:
 - 24 пробирки с закручивающимися крышками, содержащими по 5 мл среды код 70160
- Готовая к использованию селективная добавка:
 - 1 флакон-капельница 3 мл код 70161

4. СОСТАВ

- Среда BioFM
 - дигидрофосфат калия
 - гидрофосфат натрия
 - сульфат аммония
 - сульфат магния
 - сульфат цинка
 - сульфат меди
 - хлорид кальция
 - хлорид натрия
 - аммонийный цитрат железа
 - пиридоксин
 - биотин
 - цитрат натрия
 - аминокислоты
 - панкреатический перевар казеина
 - бычий сывороточный альбумин
 - глицерин
 - глюкоза
 - дистиллированная вода
 - жирные кислоты
 - каталаза
 - индикатор роста
- BioFM VCA
 - ванкомицин
 - колистин
 - амфотерицин В

5. ХРАНЕНИЕ

- Готовая к использованию среда: при + 2 - 8° С, хранить в темном месте.
 - Готовая к использованию добавка: при + 2 - 8° С, хранить в темном месте. После вскрытия упаковки реагент должен быть использован в течение 45 дней. После использования флакон необходимо незамедлительно возвращать в холодильник.
- Срок годности и номер серии указан на упаковке.

6. МЕТОДИКА

Материал:

Используемый материал: BioFM, BioFM VCA

Предупреждения по использованию/Инструкции по безопасности

При работе с образцами, содержащими микобактерии, должны быть обеспечены условия работы с микроорганизмами 3 группы патогенности.

Все биологические образцы, инокулируемые в среду, должны быть разжижены и деконтаминированы. Для хранения культур следуйте соответствующим рекомендациям.

При низкой концентрации микобактерий в пробе чувствительность метода может быть повышена концентрированием с помощью центрифугирования.

Инокуляция среды BioFM

В асептических условиях добавить к 5 мл среды BioFM:

- 0,5 мл деконтаминированного или недеконтаминированного образца, гомогенизировать
- 100 мкл (2 капли) BioFM VCA селективной добавки.

При предположении *M. haemophilum* в среду необходимо добавить источник гемина.

После растворения инокулята (на 3...4 день) необходимо плотно закрыть пробирки закручивающейся крышкой или пластиковой пробкой.

Инкубация

Инкубировать 5...6 недель при 37 °C.

Считывание/Интерпретация:

• Частота считывания: от 2 до 4 раз в неделю в течение первых 3-4 недель, затем 2 раза в неделю в течение 2 последующих.

• Метод считывания – интерпретации: считывание среды BioFM проходит в два этапа:

1 этап. Исследования осадка и жидкой фазы без встряхивания пробирки

• Аккуратно осмотреть дно пробирки и жидкую фазу:

- при отсутствии признаков роста (помутнения, изменения окраски на темно-синюю (фиолетовую) или наличия хлопьев) результат отрицательный, перейти ко второму этапу.

• Поднять пробирку до уровня глаз (желательно наличие естественного освещения) и встряхнуть осадок возвратно-поступательными движениями:

- при отсутствии признаков роста (помутнения, изменения окраски на темно-синюю (фиолетовую) или наличия хлопьев) культура считается отрицательной и инкубирование продолжается.
- при наличии признаков роста:

темно-синие (фиолетовые) зерна или хлопья, осевшие на дне пробирки, предположительно свидетельствуют о *M. tuberculosis*;

помутнение с окрашиванием раствора в темно-синий (фиолетовый) цвет предположительно свидетельствует об атипичных микобактериях. Предположения могут подтвердиться на втором этапе.

2 этап. Исследования осадка после встряхивания пробирки

• Поднять пробирку до уровня глаз (желательно наличие естественного освещения) и встряхнуть осадок возвратно-поступательными движениями:

- при отсутствии признаков роста (помутнения, изменения окраски на темно-синюю (фиолетовую) или наличия хлопьев) результат отрицательный, перейти ко второму этапу.
- при наличии признаков роста:

темно-синие (фиолетовые) зерна или хлопья, осевшие на дне пробирки, предположительно свидетельствуют о *M. tuberculosis*;

помутнение с окрашиванием раствора в темно-синий (фиолетовый) цвет предположительно свидетельствует об атипичных микобактериях;

- Наличие гомогенного помутнения (возможно слабо голубое прокрашивание среды), наблюдаемое через 3 дня после инокуляции, свидетельствует о контаминации.

NB: Темно-синее окрашивание, свидетельствующее о росте микобактерий, заметно даже при наличии клеточного дебриса или нерастворимых частиц.

Рекомендуется провести подсчет и изучение морфологии колоний между 2 и 8 неделями после инокуляции.

Идентификация, изучение антибиотикочувствительности

При обнаружении роста на среде BioFM соберите пастеровской пипеткой окрашенные частицы и проверьте на наличие кислотоустойчивых палочек.

Культура, полученная на среде BioFM пригодна для дальнейшей биохимической идентификации, гибридизации и изучения антибиотикочувствительности.

7. ХАРАКТЕРИСТИКА ТЕСТА

Перспективные клинические исследования 34 образцов, содержащих микобактерии, показали отсутствие различий в чувствительности между обычной средой (Ловенштейна-Йенсена) и BioFM. Однако время обнаружения положительного результата значительно различалось (BioFM – 18,4 дня по сравнению с Ловенштейна-Йенсена – 24 дня).

8. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

• BioFM

Качество BioFM контролируется по следующим штаммам:

Штамм	Результаты культивирования в анаэробных условиях
-------	---

	при 37 °С через 21 день
M.bovis BSG	Рост, синие зерна
M. tuberculosis CIP 6431	Рост, синие зерна
M. avium CIP 104244	Рост, помутнение, синие зерна
M. fortuitum	Рост, синие зерна, мутность
M.gordonae	Рост, помутнение с синим окрашиванием

• **BioFM VCA**

Селективность добавки тестировалась на различных штаммах Грам «+» и «-» бактерий и дрожжей: ингибирование роста свидетельствует о селективности добавки.

Штамм	Результаты культивирования в анаэробных условиях при 37 °С через 21 день
Staph. aureus	Ингибирование
Ps. aeruginosa	Ингибирование
C. albicans	Ингибирование

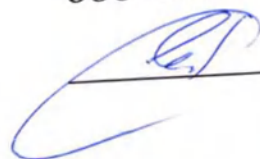
9. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

При помутнении среды протестируйте ее на наличие параллельной с микобактериями контаминации путем прямого исследования. В этом случае необходимо произвести повторный посев из образца, хранимого при + 4 °С. При наличии признаков специфического роста (темно-синее/ фиолетовое помутнение, зерна, хлопья) необходимо провести обычные идентификационные процедуры (биохимические, молекулярные).

10. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

Все производимые реагенты производятся в соответствии с системой качества, начиная с получения сырья до момента продажи продукта. Каждый лот проходит контроль качества и выводится на рынок только после подтверждения соответствия критериям качества. Сертификат соответствия имеет каждая партия продукта, выпускаемая Био-Рад.

Прошито, пронумеровано, скреплено
печатью 88 листов
Генеральный директор
ООО «Био-Рад Лаборатории»

 _____ /Е.В. Бобровник