

251 38,94

УТВЕРЖДАЮ
Главный государственный
санитарный врач
Российской Федерации
Г. Онищенко
« 25 » 200 5 г.
№ 67-11/11-05

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ систем индикаторных бумажных для идентификации микроорганизмов (СИБ).

Набор № 6 для идентификации неферментирующих грамотрицательных бактерий (НФГОВБ).

Системы индикаторные бумажные (СИБ), набор диагностический для идентификации ферментирующих грамотрицательных бактерий представляют собой диски или полоски юматографической бумаги, содержащие определенные количества субстрата в сочетании с ответствующим индикатором, стабилизированные пленкообразующим покрытием – ливиниловым спиртом.

Выпускают в наборе из 18 тестов: СИБ с аргинином, ацетатом натрия, ксилозой, 10 % ктозой, лизином, мальтозой, маннитом, сахарозой, цитратом натрия, для определения индола, сидазы, амилазы, желатиназы, нитратредуктазы, сероводорода, уреазы, фенилаланиндезаминазы, люкозой для OF теста.

Набор обеспечивает проведение 50 анализов.

Назначение. Определение ферментативной активности неферментирующих амотрицательных бактерий и их идентификация.

Способ применения. Основные требования, предъявляемые при работе с СИБ:

- исследования проводят с чистой культурой, а также с отдельными колониями посредственно с чашек с дифференциально-диагностическими средами (среда Эндо, 5 % овяной агар, питательный агар);
- погружение дисков в пробирки производят обожженным пинцетом;
- для получения четких результатов необходимо соблюдение температурного режима мостата (37 ± 1) °C, рН применяемых питательных сред и режима обработки посуды.

мен инструкции, утвержденной 22.05.03

1. Определение оксидазной активности. Культуру, выросшую на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$, растирают платиновой петлей или стеклянной палочкой на индикаторной бумажке, помещенной в чашку Петри.

2. Определение утилизации углеводов и многоатомных спиртов. По 0,3 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида $\text{pH } 7,3\pm 0,1$ разливают в стерильные пробирки. В каждую пробирку с раствором вносят полную петлю культуры, выросшей на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. Затем погружают СИБ-диск с соответствующим углеводом или многоатомным спиртом. Среда в пробирках в результате быстрой диффузии в нее индикатора, импрегнированного в бумаге, становится красной. В качестве контроля служат СИБ-диски, погруженные в пробирки со стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. Инкубируют пробирки при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-24 ч.

3. Определение индола. В пробирке с 0,3 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида $\text{pH } 7,3\pm 0,1$ суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. Полоску для обнаружения индола складывают по намеченной на ней линии вдвое и пинцетом опускают на дно пробирки так, чтобы длинный бесцветный конец погрузился в суспензию культуры, а короткий окрашенный конец находился над поверхностью суспензии. В качестве контроля используют полоску, помещенную в пробирку со стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. Инкубируют при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ от 40 мин до 2 ч.

4. Определение уреазной активности. В пробирке с 0,3 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида $\text{pH } 7,3\pm 0,1$ суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. Затем в эту взвесь погружают СИБ-диск с мочевиной. В качестве контроля используют СИБ-диск, помещенный в пробирку со стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. Инкубируют при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ от 40 мин до 2 ч.

5. Определение фенилаланиндеаминазы. В пробирке с 0,3 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида $\text{pH } 7,3\pm 0,1$ суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$, затем в эту взвесь погружают СИБ-диск с фенилаланином. В качестве контроля используют СИБ-диск, помещенный в пробирку со стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. Инкубируют при температуре $(37\pm 1)^\circ\text{C}$. После инкубации в течение 1-2 ч в пробирки помещают СИБ-диски с хлоридом железа.

6. Определение утилизации глюкозы в аэробных и анаэробных условиях (OF с глюкозой). В четыре пробирки (две опытные и две контрольные) разливают по 0,3 мл стерильного

0,9 % раствора натрия хлорида pH $7,3 \pm 0,1$. В опытных пробирках суспендируют по полной петле культуры, выросшей на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. В контрольные пробирки культуру не вносят. Затем во все четыре пробирки погружают СИБ-диски с глюкозой. После этого в одну опытную и одну контрольную пробирки вносят по 0,2 мл стерильного вазелинового масла. Пробирки инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-24 ч. Окисление определяют в пробирке, не залитой маслом. В анаэробных условиях (под слоем вазелинового масла) исследуют ферментацию глюкозы.

7. Определение желатиназной (протеолитической) активности. В пробирке с 0,3 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида pH $7,3 \pm 0,1$ суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, затем в эту взвесь погружают СИБ-диск фотопленки с желатином. В качестве контроля используют СИБ-диск фотопленки с желатином, помещенный в пробирку со стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. Инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 48-72 ч.

8. Определение нитратредуктазной активности. В пробирке с 0,3 мл стерильного 0,9 % раствора натрия хлорида pH $7,3 \pm 0,1$ суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, затем в эту взвесь погружают СИБ-диск с нитратом калия. В качестве контроля используют СИБ-диск, помещенный в пробирку со стерильным 0,9 % раствором натрия хлорида. Инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Через 18-24 ч инкубации в пробирки закапывают по 1-2 капли 0,2 % раствора риванола и 10 % раствора соляной кислоты.

9. Определение декарбоксилазы лизина и дегидролазы аргинина. В пробирке с 0,3 мл стерильного фосфатно-солевого буферного раствора pH $5,5 \pm 0,2$ суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(3 \pm 1)^\circ\text{C}$, затем в эту взвесь погружают индикаторный СИБ-диск с лизином или аргинином и вносят 0,2 мл стерильного вазелинового масла. В качестве контроля используют СИБ-диски с соответствующими аминокислотами, погруженные в пробирки со стерильным фосфатно-солевым буферным раствором pH $5,5 \pm 0,2$ с добавлением 0,2 мл стерильного вазелинового масла. Инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-24 ч.

10. Определение утилизации цитрата натрия и ацетата натрия. В пробирке с 0,3 мл стерильного фосфатно-солевого буферного раствора pH $5,5 \pm 0,2$ суспендируют полную петлю культуры, выросшей на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$, затем в эту взвесь помещают СИБ-диск с цитратом

или ацетатом натрия. В качестве контроля используют СИБ-диски, помещенные в пробирки со стерильным фосфатно-солевым буферным раствором. Инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-24 ч.

11. Определение сероводорода. В пробирке с питательным агаром для культивирования микроорганизмов, содержащим 0,5-0,7 % агара микробиологического pH $7,3 \pm 0,1$, производят посев культуры, выросшей на поверхности питательного агара для культивирования микроорганизмов в течение 18-24 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ методом укола. Затем на поверхность полужидкого питательного агара (0,5-0,7 %) помещают СИБ-диск индикаторный. В качестве контроля используют пробирку с полужидким (0,5-0,7 %) питательным агаром для культивирования микроорганизмов, на поверхность которого помещают СИБ-диск. Инкубируют при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 18-24 ч.

Учет результатов. Проводят визуально в соответствии с таблицей.

Таблица.

Учет результатов исследований.

№№ п/п	Тесты	Цвет субстрата в растворен- ном виде	Срок инкубации при 37°C	Срок учета результато в	Результат	
					положи- тельный	отрица- тельный
1	2	3	4	5	6	7
1	Определение оксидазы	серовато- сиреневый	—	30-60 с	синий цвет	серый цвет
2	Утилизация углеводов и многоатомных спиртов	красный	18-24 ч	сразу после инкубации	желтый или оранжевый цвет	красный цвет
3	Определение индола	бесцветный	от 40 мин до 2 ч	сразу после инкубации	окраши- вание короткого конца в розово- малиновый цвет	окраши- вание отсутствует
4	Определение уреазы	бесцветный	от 40 мин до 2 ч	сразу после инкубации	розово- малиновый цвет	окраши- вание отсутствует
5	Определение фенилаланин- дезаминазы	бесцветный	1-2 ч	через 10-15 с после помеще-ния индикатор- ного диска с хлоридом железа	зеленый цвет	окраши- вание отсутствует

Продолжение таблицы.

1	2	3	4	5	6	7
6	OF с глюкозой	сине-зеленый	18-24 ч	сразу после инкубации	желтый цвет	зеленый цвет
7	Определение желатиназы	бесцветный	48-72 ч	сразу после инкубации	осадок черного цвета (пленка просветляется)	вид пленки не изменяется
8	Определение нитрат-редуктазы	бесцветный	18-24 ч	через 10-15 с после закапывания по 1-2 капле 0,2 % раствора риванола и 10 % раствора соляной кислоты	вишневый цвет	желтый цвет
9	Определение декарбоксилазы лизина, дегидролазы аргинина	желтый	18-24 ч	сразу после инкубации	синий или интенсивно-зеленый цвет	желтый или светло-зеленый цвет
10	Утилизация цитрата натрия, ацетата натрия	оранжевый	18-24 ч	сразу после инкубации	красный, малиново-красный цвет	желтый или оранжевый цвет
11	Определение сероводорода	кремовый	18-24 ч	сразу после инкубации	черный цвет	окрашивание отсутствует

Обезвреживание. Использованные СИБ обезвреживают автоклавированием водяным насыщенным паром под давлением $1,5 \text{ кгс/см}^2$ ($0,15 \text{ МПа}$) при температуре $(126 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение одного часа.

Форма выпуска. СИБ-диски выпускают во флаконах, СИБ-полоски в пробирках на 50 анализов.

Набор комплектуют в картонную пачку (17 флаконов и 2 пробирки). В комплекте с набором СИБ выпускают стерильный фосфатно-солевой буферный раствор $\text{pH } 5,5 \pm 0,2$ (ФСБР) во флаконах по 10 мл. ФСБР комплектуют по 10 флаконов в картонную пачку.

Срок годности. Условия хранения и транспортирования. Срок годности 2 года. Препарат с истекшим сроком годности применению не подлежит.

Хранение в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 25°C в недоступном для детей месте.

Транспортирование в соответствии с СП 3.3.2.1248-03 при температуре от 2 до 8°C.
Допускается при температуре от минус 20°C до 25 °C не более 14 суток.

Рекламации на качество препарата, с обязательным указанием номера серии и даты изготовления, направлять в ГИСК им. Л.А. Тарасевича, (119002, г. Москва, Сивцев Вражек, д. 41, телефон и факс (095) 241-39-22) и в адрес предприятия-изготовителя ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ, 115088, г.Москва, ул. 1-я Дубровская, д. 15, тел. 981-62-00; (Адрес производства: 603950, г.Н.Новгород, ул. Грузинская, 44, тел. (8312) 34-42-77).

Директор по качеству
ФГУП «НПО «Микроген» МЗ РФ



А.В. Семченко