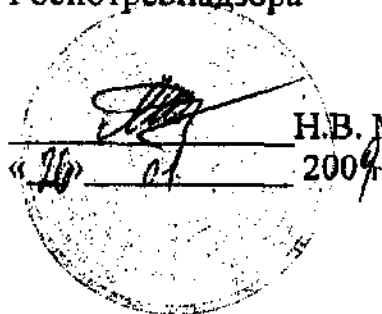


«СОГЛАСОВАНО»
Директор ФГУН ГИСК
им. Л.А. Тарасевича
Роспотребнадзора



Н.В. Медуницы

2009

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор ООО «НПО
«Диагностические системы»



И. Е. Колосов

2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ по применению набора реагентов «Пластина биохимическая, дифференцирующая стафилококки (ПБДС)»

Состав набора:

ПБДС – пластина с 20 конусообразными лунками, 17 из которых содержат сухие питательные субстраты с индикаторами. ПБДС позволяет определить следующие биохимические свойства культур стафилококков: утилизацию глюкозы; фруктозы; маннозы; мальтозы; лактозы; трегалозы; маннита; наличие фосфатазы; нитратредуктазы; образование ацетилметилкарбинола; наличие аргининдегидролазы; утилизация ксилозы; сахарозы; арабинозы; галактозы; салицина; наличие уреазы.

Дополнительные реагенты для учета результатов анализа:

α-нафтол;

калия гидроксид;

натрия гидроксид;

реактив Грисса;

1 % пептонная вода, сухая – пептон сухой ферментативный, натрия хлорид;

масло вазелиновое.

Взамен инструкции по применению от 22.05.2003 г.

Набор рассчитан на дифференциацию до вида 20 культур микроорганизмов рода *Staphylococcus*, выделенных в ходе бактериологического анализа.

Описание

Пластина с 20 конусообразными лунками (пронумерованными слева направо, начиная с верхнего ряда), содержащими сухие питательные субстраты с индикаторами, стабилизированные поливиниловым спиртом: 17 лунок содержат сухие питательные субстраты (лунки № 1 - 16 и № 20), лунки № 17, 18, 19 субстратами не заполнены и в работе не используются. Цвет среды в лунке зависит от применяемого индикатора и pH субстрата (см. таблицу № 1, графа 3). Пластина закрывается крышкой.

Дополнительные реагенты:

α-нафтол - кристаллическая масса розоватого цвета;

калия гидроксид – белые кристаллы неправильной формы;

натрия гидроксид – белые кристаллы неправильной формы;

реактив Грисса – порошок белого, светло-серого или розоватого цвета;

1 % пептонная вода, сухая – порошок желтого цвета;

масло вазелиновое – прозрачная вязкая жидкость с желтоватым оттенком.

Назначение

Определение ферментативной активности микроорганизмов рода *Staphylococcus*, выделенных в ходе бактериологического анализа, и дифференциация их до вида.

Способ применения:

1. Перечень оборудования, материалов и реактивов, необходимых для постановки анализа.

1. Термостат;

2. Дозаторы пипеточные переменного объема (одно- и многоканальные) с одноразовыми наконечниками с погрешностью измерения не более 5%;

3. Стерильная 1% пептонная вода рН от 7,2 до 7,4;
4. Пипетка стеклянная вместимостью 1 мл 2 класса точности по ГОСТ 20292-76 Е;
5. Отраслевой стандартный образец мутности (ОСО мутности) (ОСО 42-28-85-06П) – 10 МЕ;
6. Этиловый спирт;
7. Пробирки стеклянные стерильные.

2. Приготовление растворов дополнительных реагентов

1 % пептонная вода рН от 7,2 до 7,4 – для приготовления суспензии исследуемых образцов культур микроорганизмов. Содержимое флакона с сухими компонентами 1 % пептонной воды растворить в 100,0 мл дистиллированной воды. Стерилизовать автоклавированием при температуре 120 °С при давлении 1,1 атм в течение 30 мин, концентрацию водородных ионов (рН) контролировать на иономере универсальном до и после стерилизации.

α-нафтол – для обнаружения образования ацетилметилкарбинола. Для получения 6 % раствора содержимое флакона растворить в 2,38 мл 96 % этилового спирта. Готовят «ex tempore».

Калия гидроксид – для обнаружения образования ацетилметилкарбинола. Для получения 40 % раствора содержимое флакона растворить в 1,2 мл дистиллированной воды.

Реактив Грисса – для выявления нитратредуктазы. Содержимое флакона растворить в 2,0 мл дистиллированной воды.

Натрия гидроксид – для определения фосфатазы. Для получения 20 % раствора содержимое флакона растворить в 1,6 мл дистиллированной воды.

Масло вазелиновое стерильное – для создания анаэробных условий в лунках при определении наличия аргининдегидролазы и уреазы. Готово к применению.

3. Подготовка исследуемых образцов

Для идентификации культуры выращивают на питательном агаре в течение от 18 до 24 ч при температуре (37±0,5) °С.

Для идентификации готовят микробную суспензию в стерильной 1 % пептонной воде pH от 7,2 до 7,4 густотой 10 единиц по отраслевому стандартному образцу для визуального определения мутности бактериальных взвесей. При отсутствии стандартного образца 2-3 петли культуры вносят в пробирки с 4,0 мл 1% пептонной воды.

4. Ход анализа

- 4.1. Извлекают пластину из полиэтиленового пакета.
- 4.2. Регистрируют на крышке пластины номер засеваемого штамма.
- 4.3. Открывают крышку пластины и располагают пластину на столе.
- 4.4. Добавляют пипеткой вместимостью 1,0 мл по 0,15 мл микробной суспензии во все лунки пластины, кроме лунок № 17, № 18 и № 19, которые остаются свободными.
- 4.5. Для создания анаэробных условий наслаивают по 1 - 2 капли стерильного вазелинового масла в лунки для определения аргининдегидролазы и уреазы (№ № 11, 20).
- 4.6. Закрывают пластину крышкой.
- 4.7. Выдерживают пластину при температуре $(37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ от 18 до 24 ч.

Учёт результатов

Учёт результатов производят визуально, в соответствии с цветовым указателем (см. таблицу №1) по окончании инкубации при температуре $(37 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$.

После окончания инкубации открывают крышку пластины и в лунку для выявления ацетилметилкарбинола (№ 10) добавляют 1 каплю 6 % раствора α -нафтола и 1 каплю 40 % раствора гидроокиси калия; в лунку для определения фосфатазы (№ 8) добавляют 1 каплю 20 % раствора гидроокиси натрия; в лунку для выявления нитратредуктазы (№ 9) добавляют 1 - 2 капли реактива Грисса. Выявление ацетилметилкарбинола (№ 10) осуществляют через 15 - 20 мин после закапывания реактивов.

Идентификацию культур микроорганизмов проводят с использованием таблицы биохимических свойств стафилококков, кодовой карточки, каталога кодов – пособия для интерпретации полученных результатов с использованием математического метода классификации.

Таблица № 1

Цветовой указатель

№ лунки и теста	Наименование теста	Цвет среды в сухом виде	Цвет среды в растворён- ном виде	Положительная реакция	Отрицательная реакция
1	2	3	3	4	5
1.	Утилизация глюкозы	Красный	Красный	Жёлтый	Красный
2.	Утилизация фруктозы	Красный	Красный	Жёлтый	Красный
3.	Утилизация маннозы	Красный	Красный	Жёлтый, оранжевый	Красный
4.	Утилизация мальтозы	Красный	Красный	Жёлтый, оранжевый	Красный
5.	Утилизация лактозы	Красный	Красный	Жёлтый	Красный
6.	Утилизация трегалозы	Красный	Красный	Жёлтый	Красный
7.	Утилизация маннита	Красный	Красный	Жёлтый, оранжевый	Красный
8.	Наличие фосфатазы	Бесцветный	Бесцветный	Малиновый	Бесцветный, слабо- розовый
9.	Наличие нитратредуктазы	Бесцветный	Бесцветный	Розовый, малиновый	Бесцветный
10.	Образование ацетил- метилкарбинола	Бесцветный	Бесцветный	Розовый, малиновый	Бесцветный
11.	Наличие аргининде- гидролазы	Жёлтый, зелёный	Жёлтый, зелёный	Голубой, синий	Жёлтый, зелёный
12.	Утилизация ксилозы	Красный	Красный	Жёлтый	Красный, оранжевый
13.	Утилизация сахарозы	Красный	Красный	Жёлтый	Красный
14.	Утилизация арабинозы	Красный	Красный	Жёлтый, оранжевый	Красный
15.	Утилизация галактозы	Красный	Красный	Жёлтый, оранжевый	Красный
16.	Утилизация салицина	Красный	Красный	Жёлтый, оранжевый	Красный
20.	Наличие уреазы	Жёлтый	Жёлтый	Красный, малиновый	Жёлтый

Обеззараживание Использованную пластину обеззараживают погружением в 6 % раствор перекиси водорода с 0,5 % синтетического моющего

средства (СМС) или в 3 % раствор хлорамина Б. Длительность дезактивации не менее 1 ч.

Форма выпуска.

Выпускается в виде набора реагентов:

Пластина биохимическая, дифференцирующая стафилококки	
– 20 штук в запаянном полиэтиленовом пакете	1 пакет
Масло вазелиновое – 8,0 мл	1 фл.
α -нафтол – 0,12 г	1 фл.
Реактив Грисса – 0,2 г	1 фл.
Калия гидроксид – 0,8 г	1 фл.
Натрия гидроксид – 0,4 г	1 фл.
1 % пептонная вода, сухая (рН от 7,2 до 7,4) – на 0,100 л раствора	1 фл.
(пептон сухой ферментативный для бактериологических целей – 1,0 г, натрия хлорид – 0,85 г)	

Пластины в полиэтиленовом пакете, дополнительные реагенты, таблица биохимических свойств стафилококков, кодовые карточки и инструкция по применению упакованы в коробку картонную.

По заявке потребителей к ПБДС может быть приложен каталог кодов.

Срок годности. Условия транспортирования и хранения.

Срок годности набора - 12 мес.

По истечении срока годности набор использованию не подлежит.

Транспортирование наборов должно производиться при температуре от 2 до 25 °С. Замораживание не допускается.

Набор должен храниться в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 25 °С в течение всего срока годности.

Условия отпуска - Для лечебно-профилактических и санитарно-профилактических учреждений.

Рекламации на специфические и физические свойства набора направлять в ФГУН ГИСК им. Л. А. Тарасевича Роспотребнадзора по адресу 119002, Россия, г. Москва, пер. Сивцев Вражек, д. 41, тел.: (495) 241-39-22, факс: (495) 241-92-38 и в адрес предприятия-изготовителя - ООО «Научно производственное объединение «Диагностические системы» 603093, Россия, Нижний Новгород, ул. Яблонева, 22, тел./факс: (831) 434-86-83 или тел.: (831) 434-97-12. E-mail: info@npods.nnov.ru; www.npods.ru.

**Директор по производству ООО
«Научно-производственное объединение
«Диагностические системы»**



В. К. Пименов