

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор
ЗАО «НИЦФ»



Плинер Е.Г.
20__ г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения бактериальной
фенилаланиндезаминазной активности
(Микро-ФЕНИЛАЛАНИН-НИЦФ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для определения способности бактерий дезаминировать фенилаланин, путем нанесения реактива FeCl_3 на посев изучаемой культуры на плотной питательной основе, приготовленной из компонентов набора.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1. Принцип метода.

Сущность метода заключается в том, что при дезаминировании фенилаланина образуются фенилпировиноградная кислота и аммиак. Кислота бесцветная, и для ее обнаружения применяют индикатор реакции FeCl_3 . При наличии фермента фенилаланиндезаминазы в конденсате и на поверхности косяка появляется зеленое окрашивание - положительная реакция, которая наблюдается через 1 сут, у большинства видов бактерий через 2-3 сут, у некоторых видов через 4 сут. При отрицательном результате добавление индикатора реакции цвет на поверхности и в конденсате не меняет.

2.2. Состав.

В состав набора входят следующие компоненты:

- сухая питательная основа (1 флакон (23 г):

дрожжевой экстракт сухой – 3 г;

натрий фосфорнокислый двузамещенный – 1 г;

натрия хлорид – 5 г;

агар-агар – 12 г;

фенилаланин – 2 г.

- индикатор реакции FeCl_3 – 1 флакон (2 г).

Копия верна

Набор рассчитан на проведение 200 определений.

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Положительный результат дезаминирования фенилаланина бактериями.

При нанесении на поверхность скошенной питательной основы с посевом *Proteus vulgaris* ЛИА-247 0,1 мл раствора FeCl_3 появляется зеленая окраска в конденсате и на поверхности косяка не позднее 30 секунд с момента нанесения.

3.2. Отрицательный результат дезаминирования фенилаланина бактериями.

При нанесении на поверхность скошенной питательной основы с посевом *Escherichia coli* ATCC 25922 0,1 мл раствора FeCl_3 изменение окраски индикатора на поверхности косяка не происходит.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора – класс 1.

Набор реагентов предназначен только для *in vitro* диагностики.

Компоненты набора в используемых концентрациях являются нетоксичными.

При работе с анализируемым материалом необходимо надевать одноразовые резиновые или пластиковые перчатки, так как образцы биологического материала человека следует рассматривать как потенциально инфицированные, способные длительное время сохранять и передавать возбудители вирусной инфекции.

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ:

- воронка стеклянная диаметром 7 – 10 см;
- пипетки стеклянные вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10 мл;
- палочки стеклянные;
- цилиндр мерный вместимостью 250-1000 мл;
- колбы мерные вместимостью 25 - 50 мл;
- колбы стеклянные вместимостью 1000 мл;
- пробирки стеклянные вместимостью 10-20 мл;
- вата медицинская гигроскопическая хирургическая нестерильная;

- марля медицинская;
- газовая горелка (спиртовка);
- спирт этиловый ректификованный технический для спиртовок;
- иономер универсальный типа ЭВ-74;
- газовая или электрическая плита;
- термостат, поддерживающий температуру $37 \pm 1^\circ\text{C}$;
- автоклав;
- петли бактериологические нихромовые № 2-3;
- петледержатели цанговые;
- вода дистиллированная;
- 0,1 н натрия гидроокись;
- 0,1 н соляная кислота.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты (выделенные из клинического материала, пищевых продуктов или объектов окружающей среды культуры бактерий) исследований в санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление питательной основы.

При помощи цилиндра мерного внести в колбу 1 л дистиллированной воды. Внести сухую питательную основу (все содержимое флакона) и растворить ее, перемешивая стеклянной палочкой. Кипятить до полного растворения агара (5-10 мин), при необходимости профильтровать через ватно-марлевый фильтр. Установить pH 7,0 - 7,2 при помощи иономера универсального, добавляя по каплям 0,1 н раствор щелочи или кислоты. Препарат разлить по 5 мл в бактериологические пробирки, закрыть ватно-марлевыми пробками, стерилизовать при 0,5 атм в течение 30 мин и охладить в скошенном положении (длинным косяком). Приготовленную и разлитую по пробиркам питательную среду можно хранить при температуре от 4-8 °C не более 2 мес.

7.2. Приготовление реактива.

Индикатор реакции FeCl_3 (все содержимое флакона) растворить в 10 мл стерильной дистиллированной воды, размешать до полного растворения стерильной стеклянной палочкой. Перенести раствор в мерную колбу вместимостью 25 – 50 мл и довести объем стерильной дистиллированной водой до 20 мл. Раствор не стерилизуют. Раствор FeCl_3 можно хранить при температуре 2-8 °С без доступа света не более 1 мес.

7.3. Выделение чистой культуры бактерий, посев и инкубация на плотной питательной среде определяется для конкретного микроорганизма и производится согласно отраслевой нормативной методике.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Бактериологической петлей осуществляют пересев колонии 16-18-часовой культуры бактерий с плотной питательной среды выделения на скошенную плотную основу с фенилаланином.

Посев инкубируют в термостате при температуре 37 °С до 4 сут. По окончании инкубации на поверхность культуры, выросшей на косяке, наносят несколько капель раствора FeCl_3 (~0,1 мл). При дезаминировании фенилаланина (положительный результат) в конденсате и на поверхности косяка появляется зеленое окрашивание.

При отрицательной реакции в конденсате и на поверхности косяка при нанесении реактива изменение окраски не происходит.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор реагентов (Микро-ФЕНИЛАЛАНИН-НИЦФ) следует хранить в упаковке предприятия-изготовителя в темном прохладном месте при температуре от 2 до 25°С в течение всего срока годности.

Срок годности набора – 1 год.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

Рекламации на качество Набора реагентов в течение срока годности следует направлять в адрес производителя: Закрытое акционерное общество "Научно-