

«УТВЕРЖДАЮ»

Генеральный директор

ЗАО «НИЦФ»



Плинер Е.Г.

20 ____ г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения бактериальной

цитохромоксидазной активности

(Микро-ЦИТОХРОМОКСИДАЗА-НИЦФ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов Микро-ЦИТОХРОМОКСИДАЗА-НИЦФ предназначен для определения бактериальной цитохромоксидазной активности с помощью растворов, приготовленных из компонентов набора.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1. Принцип метода.

Метод основан на способности фермента бактерий цитохромоксидазы окислять кислород, содержащийся в растворе, до высокоактивного аниона ($O^{\cdot -}$), который легко окисляет ароматические амины до полимерных продуктов, окрашенных в синий цвет.

2.2. Состав.

Набор выпускается в двух модификациях: с N,N,N,N-тетраметил-р-фенилсндиамином (модификация №1) и N,N-диметил-р-фенилендиаминдигидрохлоридом (модификация №2).

Модификация №1:

В состав модификации входят следующие компоненты:

- N,N,N,N-тетраметил-р-фенилендиаминдигидрохлорид – 5 флаконов-капельниц полимерных по 10 мг;
- растворитель (вода дистиллированная) 5 флаконов полипропиленовых по 1 мл.

- перчатки резиновые хирургические;
- спирт этиловый ректификованный 96°;
- вода дистиллированная;
- петля бактериологическая из никеля или хрома диаметром 3 мм.

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление растворов для определения цитохромоксидазы.

7.1.1. Модификация №1.

Во флакон-капельницу с 10 мг N,N,N,N-тетраметил-р-фенилендиамина вносят 1 мл дистиллированной воды (весь объем прилагаемого растворителя).

Полученный рабочий раствор N,N,N,N-тетраметил-р-фенилендиамина можно использовать для контроля в течение 24 часов при условии хранения при температуре (2-8°C).

7.1.2. Модификация №2.

Реактив А.

Во флакон с 10 мг α -нафтола вносят с помощью пипетки 1 мл 96% этилового спирта.

Полученный раствор α -нафтола можно использовать для контроля в течение 10 суток при условии хранения при температуре (2-8°C).

Реактив Б.

Во флакон с 10 мг N,N-диметил-р-фенилендиамина вносят с помощью пипетки 1 мл дистиллированной воды.

Полученный раствор N,N-диметил-р-фенилендиамина можно использовать для контроля в течение 24 часов при условии хранения при температуре (2-8°C).

Приготовление рабочего раствора.

Непосредственно перед постановкой реакции в стерильную пробирку вносят при помощи пипетки 0,2 мл реактива А и 0,3 мл реактива Б. Растворы перемешивают и используют для контроля. Рабочий раствор хранению не подлежит.

7.2. Выделение чистой культуры микроорганизма, 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 посев диагностируемого микроорганизма на плотную питательную среду (согласно конкретной методике выделения чистой культуры). Инкубируют посевы при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 18-24 ч. Выросшую культуру проверяют на чистоту роста и используют для контроля.

(1 способ).

На поверхность суточной культуры наносят несколько капель рабочего раствора ($\approx 0,1$ мл).

(2 способ).

На полоску стерильной фильтровальной бумаги наносят одну петлю суточной культуры и каплю рабочего раствора.

При появлении синего окрашивания в течение 30-60 сек реакция считается положительной.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

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

Срок годности набора – 12 месяцев.