

«УТВЕРЖДАЮ»



Генеральный директор
ЗАО «НИЦФ»

Плинер Е.Г.
20 ____ г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению Набора реагентов для определения бактериальной
декарбоксилазной активности

(Микро-АРГИНИН-НИЦФ,

Микро-ЛИЗИН-НИЦФ,

Микро-ОРНИТИН-НИЦФ)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор реагентов предназначен для биохимической дифференциации бактерий по их способности декарбоксилировать аминокислоты благодаря выявлению щелочных продуктов декарбоксилирования с помощью растворов, приготовленных из компонентов набора.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА РЕАГЕНТОВ

2.1. Принцип метода.

Принцип метода заключается в том, что при декарбоксилировании аминокислоты образуются щелочные продукты реакции. Это приводит к смещению pH среды в щелочную сторону и проявляется в изменении окраски индикатора (бромтимолового синего) с зеленого в синий цвет. При отрицательном результате цвет среды становится желтым за счет выделения кислых продуктов при расщеплении глюкозы.

2.2. Состав.

Набор выпускается в трех вариантах (по типу ферментоспецифического субстрата): для определения аргининдекарбоксилазной активности (Микро-АРГИНИН-НИЦФ), или для определения лизиндекарбоксилазной активности (Микро-ЛИЗИН-НИЦФ) или для определения орнитиндекарбоксилазной активности (Микро-ОРНИТИН-НИЦФ).

Каждый вариант Набора рассчитан на проведение 100 определений.

Варианты набора могут поставляться потребителю, как в комплекте, так и по отдельности.

В состав Набора входят:

- сухая питательная основа (4,5 г во флаконе);
- аминокислота (аргинин, или орнитин, или лизин) (2,5 г во флаконе);
- спиртовой раствор бромтимолового синего (0,7 мл во флаконе).

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Положительная реакция на аргинингидролазу.

Рабочий раствор с аргинином должен обеспечивать изменение цвета из зеленого в синий при посеве суточной культуры *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 в количестве одной бактериологической петли диаметром 2 мм не позднее чем через 18-24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3.2. Положительная реакция на лизиндекарбоксилазу.

Рабочий раствор с лизином должен обеспечивать изменение цвета из зеленого в синий при посеве суточной культуры *Serratia marcescens* ВКМВ-1248 в количестве одной бактериологической петли диаметром 2 мм не позднее чем через 96 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3.3. Положительная реакция на орнитиндекарбоксилазу.

Рабочий раствор с орнитином должен обеспечивать изменение цвета из зеленого в синий при посеве суточной культуры *Serratia marcescens* ВКМВ-1248 в количестве одной бактериологической петли диаметром 2 мм не позднее чем через 96 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$.

3.4. Отрицательная декарбоксилазная активность.

Изменения цвета рабочего раствора с аргинином, лизином или орнитином при посеве суточной культуры *Proteus vulgaris* ЛИА-247 в количестве одной бактериологической петли диаметром 2 мм через 96 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ не происходит.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Потенциальный риск применения набора реагентов — класс 1.

Набор реагентов предназначен только для *in vitro* диагностики.

Компоненты набора реагентов 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;
- горелки газовые или спиртовые;
- пипетки стеклянные вместимостью 1,0; 2,0; 5,0 и 10 мл;
- палочки стеклянные;
- цилиндр мерный вместимостью 250-1000 мл;
- пробирки стеклянные вместимостью 10-20 мл;
- колбы стеклянные вместимостью 250-500 мл;
- вата медицинская гигроскопическая хирургическая нестерильная;
- бумага фильтровальная лабораторная;
- спирт этиловый ректификованный технический для спиртовок;
- иономер универсальный;
- газовая или электрическая плита;
- петля бактериологическая из никеля или хрома диаметром 3 мм;
- термостат суховоздушный с диапазоном стабилизируемых температур (10...50 °C) $\pm 0,5$ °C;
- стерилизатор паровой;
- вода дистиллированная;
- 0,1н натрия гидроокись;
- 0,1н соляная кислота;

- масло вазелиновое медицинское.

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 рабочего раствора.

При помощи цилиндра мерного внести в колбу 500 мл дистиллированной воды. Внести сухую питательную основу (все содержимое флакона) и растворить ее, перемешивая стеклянной палочкой. Установить pH 6,0-6,1 при помощи иономера универсального, добавляя по каплям 0,1 н раствор щелочи или кислоты. Раствор прокипятить, при необходимости профильтровать через вату или бумажный фильтр, вновь установить pH 6,0-6,1 и добавить 0,5 мл бромтимолового синего.

Полученный раствор разливают в две колбы по 250 мл, в одну из них добавляют аминокислоту (аргинин, или лизин, или орнитин) (все содержимое флакона). Вторую колбу оставляют в качестве контроля. Готовый рабочий раствор в обеих колбах должен иметь зеленый или светло-зеленый цвет.

Рабочие растворы разливают по 2,5 мл в бактериологические пробирки, закрывают ватно-марлевыми пробками, промаркировывают опытные и контрольные пробы, стерилизуют при 0,5 атм в течение 30 мин.

7.2. 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

Для определения положительной реакции на соответствующую декарбоксилазу в каждую из 2-х пробирок, приготовленных по п.7.1 (в рабочий раствор без аминокислоты (контроль) и в рабочий раствор с аминокислотой

(опыт)) засевают по одной бактериологической петле диаметром 2 мм суточную агаровую культуру бактерий.

Посевы заливают стерильным вазелиновым маслом по 0,5 мл на пробирку. Посевы инкубируют до 96 ч при температуре $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$. Через 24 ч и далее каждые сутки до окончания инкубации (но не позднее 4 суток) визуально проводят учет результатов.

При гидролизе аминокислоты (положительный результат) рабочий раствор в опытной пробирке за счет накопления щелочных продуктов, приобретает синюю окраску.

В контрольной пробирке должна быть желтая или зеленая окраска среды.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Набор реагентов (Микро-АРГИНИН-НИЦФ, Микро-ЛИЗИН-НИЦФ, Микро-ОРНИТИН-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 – 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-исследовательский центр фармакотерапии" Адрес: 196240, г. Санкт-Петербург, проезд Предпортовый 7-й, д. 2а, лит.А, телефон: (812) 320 71 73.

Ответственный за производство:

Начальник производства
реактивов

«СОГЛАСОВАНО»

Главный врач СПб ГУЗ

«Городская поликлиника № 75

