

ДИСКИ И ПОЛОСКИ

для идентификации и дифференциации микроорганизмов



HIMEDIA[®]

ХайМедиа Лабораториис Лтд.
«Для драгоценной жизни».



Диагностические диски

Эти диски пропитаны химическими веществами и при нанесении их на поверхность, в глубину питательных сред или непосредственно в микробную суспензию можно проводить идентификацию и дифференциацию микроорганизмов.

Диски для определения ферментации углеводов

№ по каталогу	Субстрат	Обозначение	Упаковка
DD025	Адонит	Ad	1 фл.
DD001	Арабиноза	Ar	1 фл.
DD028	Целлобиоза	Ce	1 фл.
DD002	D-Глюкоза	De	1 фл.
DD003	Дульцит	Du	1 фл.
DD016	Галактоза	Ga	1 фл.
DD017	Фруктоза	Fc	1 фл.
DD027	Инозит	Is	1 фл.
DD026	Инулин	In	1 фл.
DD004	Лактоза	La	1 фл.
DD005	Мальтоза	Ma	1 фл.

№ по каталогу	Субстрат	Обозначение	Упаковка
DD006	Маннит	Mn	1 фл.
DD007	Манноза	Mo	1 фл.
DD030	Мелибиоза	Mb	1 фл.
DD029	Раффиноза	Rf	1 фл.
DD010	Рамноза	Rh	1 фл.
DD011	Салицин	Sa	1 фл.
DD012	Сорбит	Sb	1 фл.
DD013	Сахароза	Su	1 фл.
DD031	Трегалоза	Te	1 фл.
DD014	Ксилоза	Xy	1 фл.

Дифференцирующие диски и полоски

№ по каталогу	Субстрат и его назначение Обозначение	Упаковка
DD015	*Бацитрацин (50 дисков во флакончике) Для идентификации <i>Streptococcus pyogenes</i>	В 1 фл.
DD024	*Эскулин с желчью (50 дисков во флакончике) Для выявления гидролиза эскулина в присутствии желчи	1 фл.
DD039	*Биотест для контроля «холодной» стерилизации (25 полосок в упаковке) Полоски с бактериальными спорами для контроля стерилизации ионизирующим излучением	1 уп.
DD032	*Биотест для контроля тепловой стерилизации (25 полосок в упаковке) Полоски с бактериальными спорами для контроля стерилизации водяным паром.	1 уп.
DD040	Индоловые диски ДМАСА (50 дисков во флакончике) Для определения индолообразования микроорганизмами	1 фл.
DD035	*Гиппурат натрия (25 дисков во флакончике) Для определения гидролиза гиппурата	1 фл.
DD019	*Полоски с реактивом Ковача (25 полосок в упаковке) Для определения индолообразования микроорганизмами	1 фл.
DD034	*Полоски с ацетатом свинца (25 полосок в упаковке) Для определения сероводородообразования микроорганизмами	1 фл.

№ по каталогу	Субстрат и его назначение Обозначение	Упаковка
DD041	Диски с нитратом (50 дисков во флакончике) Для определения нитратредуктазы микроорганизмов	1 фл.
DD042	Диски с нитритным реактивом (50 дисков во флакончике) Для определения нитратредуктазы микроорганизмов	1 фл.
DD009	*Оптохин (50 дисков во флакончике) Для идентификации <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Op 1 фл.
DD008	*ONPG (50 дисков во флакончике) Для определения -галактозидазы	Op 1 фл.
DD018	*Оксидазные диски (50 дисков во флакончике) Для определения у микроорганизмов оксидазной активности	1 фл.
DD020	*Фактор X (50 дисков во флакончике) Для предварительной идентификации гемофильных бактерий	1 фл.
DD022	Факторы X+V* (50 дисков во флакончике) Для предварительной идентификации гемофильных бактерий	1 фл.
DD021	Фактор V* (50 дисков во флакончике) Для предварительной идентификации гемофильных бактерий	1 фл.

Примечания: * Все материалы хранить при 0...+8°C;
хранить при температуре не выше (-20°C).



Используются для предварительной идентификации представителей рода *Haemophilus* по потребности в факторах роста (X, V или X+V).

Принцип и оценка результата :

Расположенные во флакончиках стерильные бумажные диски пропитаны факторами роста, используемыми для предварительной идентификации представителей рода *Haemophilus*. По потребности в факторах X и/или V при росте на основной среде можно идентифицировать виды гемофильных бактерий и бордетелл.

Стерильные бумажные диски диаметром 6 мм пропитаны факторами X (геминим) и/или V (никотинамидадениндинуклеотид, НАД). Микроорганизмы с потребностью только в гемине (фактор X) растут вблизи дисков с факторами X или X+V, с потребностью только в НАД вокруг дисков с факторами V или X+V. При потребности в обоих факторах рост отмечается только возле диска X+V. Таким образом, на основной питательной среде вокруг дисков с соответствующим фактором (ами) роста наблюдается сателлитный рост испытуемого микроорганизма.

Указания по применению :

Засейте культуру испытуемого микроорганизма газоном на поверхность основы кровяного агара (M073) или сердечно-мозгового агара (M211) в чашке Петри. Асептически наложите на засеянную поверхность агара диски с факторами X (DD020), V (DD021) и X+V (DD022), расположив их в точках, соответствующих 12, 4 и 8 часам циферблата. Инкубируйте чашки при 35-37°C в течение 24-48 ч. Проверьте наличие микробного роста вблизи каждого диска.

Культуральные свойства :

Ростовые характеристики референс-штаммов через 24-48 ч при 35-37°C на основе кровяного агара (M073) или сердечно-мозговом агаре (M211).



Штаммы (ATCC)	микроорганизмов	Рост в условиях			
		Без фактора в роста	С фактором X	С фактором V	С факторами X+V
<i>Haemophilus influenzae</i> (35056)		-	-	-	+
<i>Haemophilus parainfluenzae</i> (7901)		-	-	+	+
<i>Haemophilus ducreyi</i>		-	+	-	+

Примечание: +=положительный результат (сателлитный рост вокруг диска);
 -= отсутствие роста;

Внимание!

- ✎ Для контроля питательной среды и дисков рекомендуется использовать известные штаммы *Haemophilus influenzae*.
- ✎ Не рекомендуется использовать для посева густые суспензии микроорганизмов, поскольку вместе с ними на поверхность агара могут быть внесены факторы роста (в том числе X или V) со среды предыдущего культивирования.

Диски с оптохином

DD009

Используются для идентификации и дифференциации *Streptococcus pneumoniae* и «зеленящих» стрептококков.

Принцип и оценка результата :

Оптохиновые диски представляют собой диски из фильтровальной бумаги, пропитанные оптохином. Тест основан на способности «зеленящих» стрептококков, в отличие от *Streptococcus pneumoniae*, расти на питательных средах в присутствии оптохина.

Данный тест используют при диагностике пневмококковых инфекций.

Образцы мокроты, трахео-бронхиального аспирата, плевральной жидкости, ликвора, мочи или крови предварительно подвергают микроскопическому исследованию (готовят мазки, окрашенные по Граму), делают посевы на соответствующие питательные среды для выделения чистых культур, которые затем испытывают в оптохиновом тесте.

«Зеленящие» (-гемолитические) стрептококки трудно отличить от пневмококков по росту на чашках с кровяным агаром, так как пневмококки тоже дают зоны частичного просветления агара, окрашенные в зеленый

ц в е т

(-гемолиз). Оптохин подавляет рост пневмококков, тогда как рост других стрептококков не подавляется или образуется очень небольшая зона задержки роста. Bowers и Jeffries установили наличие корреляции между способностью клеток растворяться в присутствии желчи и полной чувствительностью к оптохину, что позволяет дифференцировать *Streptococcus pneumoniae* от других стрептококков (2).

Ввиду вышесказанного оптохиновый тест имеет диагностическое значение при идентификации и дифференциации *Streptococcus pneumoniae* и «зеленящих» стрептококков.

Указания по применению :

Приготовьте триптон-соевый агар (M290) с добавлением крови или кровяной агар из агаровой основы (M073). Засейте чистую культуру испытуемого микроорганизма газонем на поверхность приготовленного

агара на одной из половин чашки Петри. На другой половине засеяте тем же образом известную культуру пневмококка (для положительного контроля). Сразу после посева наложите по одному оптохиновому диску в центры засеянных половин агара и инкубируйте чашку при 35-37°C. После инкубирования среды проверьте наличие вокруг дисков зон задержки роста.

Культуральные свойства : (Cultural response)

Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-24 ч при 35-37°C на триптон-соевом агаре с добавлением крови (M290) в присутствии диска с оптохином:

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Диаметр зоны задержки роста (мм)
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (6303)	15
<i>Streptococcus pyogenes</i> (19615)	13

Диски с бацитрацином

DD015

Используются для идентификации и дифференциации стрептококков группы А (главным образом, *Streptococcus pyogenes*) и других -гемолитических стрептококков.

Принцип и оценка результата :

Бацитрациновые диски представляют собой диски из фильтровальной бумаги, пропитанные 0,04 ЕД антибиотика бацитрацина. Тест основан на способности указанного количества бацитрацина подавлять рост -гемолитических стрептококков группы А на кровяном агаре. Диск с бацитрацином (0,04 ЕД) подавляет рост стрептококков и микрококков, но не стафилококков: все коагулазо-отрицательные стафилококки устойчивы к бацитрацину (7). Бацитрациновые диски позволяют существенно экономить время, трудозатраты и материалы в том случае, если скрининговое исследование с дисками проводится перед серотипированием. Как показано Maxted, стрептококки группы А более чувствительны к бацитрацину, чем -гемолитические стрептококки других групп (3). В связи с этим он предложил использовать бацитрацин для быстрого выявления стрептококков группы А.

Levinson и Frank (4), использовавшие бумажные диски с бацитрацином, показали, что многие чувствительные к нему -гемолитические стрептококки относятся к группе А. Проведенное Streamer и соавт. (5) исследование по сравнению результатов, полученных с помощью бацитрациновых дисков, методом флюоресцирующих антител и в реакции преципитации по Лэнсфилду, показало, что методика дисков наиболее приемлема в рутинных лабораторных исследованиях. Тесты на чувствительность к бацитрацину, фурацину и оптохину полезны для дифференциации *Aerococcus viridans* и

Streptococcus milleri от энтерококков и *Streptococcus mitis* (4).

Указания по применению :

Приготовьте кровяной агар из основы триптонного кровяного агара (M097). Засейте чистую культуру испытуемого микроорганизма газонем на поверхность приготовленного агара. Сразу после посева асептически наложите на поверхность агара диски с бацитрацином и слегка прижмите их. Переверните чашку с засеянным агаром и инкубируйте ее при 35 - 37°C в атмосфере 10% CO₂ до появления роста (18-24 ч). После инкубирования среды проверьте наличие вокруг дисков зон задержки роста.

Результаты :

Наличие зоны торможения роста исследуемой культуры стрептококка предположительно указывает на ее принадлежность к группе А. Для дальнейшего подтверждения следует использовать серологические методы.

Культуральные свойства :

Ростовые характеристики референс-штаммов через 18-24 ч при 35-37°C на триптонном кровяном агаре (M097) в присутствии диска с бацитрацином.

Штамм микроорганизмов (ATCC)	Диаметр зоны задержки роста (мм)
<i>Streptococcus pyogenes</i> (19615)	15

Используются для быстрого определения -галактозидазной активности микроорганизмов, что особенно важно при идентификации видов, медленно ферментирующих лактозу.

Принцип и оценка результата :

ОНФГ-диски представляют собой диски из фильтровальной бумаги, пропитанные специальным реактивом орто-нитрофенил - -D галактопиранозидом (ONPG). Для утилизации лактозы микроорганизмы используют 2 фермента. Первый пермеаза необходим для переноса молекул лактозы в клетку. Второй - галактозидаза обеспечивает гидролиз поступившей молекулы с образованием глюкозы и галактозы. У истинных лактозоотрицательных микроорганизмов (не ферментирующие лактозу) оба фермента отсутствуют. В то же время встречаются микробные виды, у которых отсутствует только пермеаза, а -галактозидаза имеется это т. н. поздно ферментирующие виды. ОНФГ является бесцветным веществом синтетического происхождения (галактопиранозид), которое имеет структурное сходство с лактозой (12). Фермент -галактозидаза расщепляет ОНФГ с образованием глюкозы и орто-нитрофенила вещества, имеющего желтый цвет.

Тест с ОНФГ особенно полезен для выявления поздно ферментирующих лактозу микроорганизмов, которые обычно не определяются в общепринятых тестах ферментации лактозы. Ввиду того, что отношение к лактозе широко используется для характеристики энтеробактерий, для их дифференциации применяют также тест с ОНФГ.

Указания по применению :

Внесите один ОНФГ-диск в стерильную пробирку для тестирования. Добавьте 0,1 мл стерильного физиологического раствора хлорида натрия (0,85%, вес/об). Стерильной петлей снимите колонию (рост) испытуемого микроорганизма и эмульгируйте клетки в пробирке с диском ОНФГ в физиологическом растворе.



Инкубируйте пробирку с испытуемой суспензией при 35-37°C. Для выявления лактозоположительных микроорганизмов (быстро ферментирующих лактозу) результат учитывают ежечасно в течение 6 часов. Для выявления медленно ферментирующих лактозу микроорганизмов пробирки с отрицательным результатом продолжают инкубировать до конца 24-часового периода.

Культуральные свойства :

Результаты теста с дисками ОНФГ и суспензиями референс-штаммов в физиологическом растворе через 4 ч при 35°C:

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Реакция
<i>Citrobacter freundii</i> (8090)	+
<i>Enterobacter aerogenes</i> (13048)	+
<i>Escherichia coli</i> (25922)	+
<i>Proteus vulgaris</i> (6380)	-
<i>Salmonella</i> серовар Arizonae (13314)	+
<i>Salmonella</i> серовар Typhimurium (14028)	-

Примечание : + = положительный результат (желтый цвет)
 - = отрицательный результат (бесцветная суспензия и диск).

1st time in India
 Health for all

**Continuous, Automatic
 Ambient Air Purifier
 Indispensable for**

- Hospital Rooms / Wards / ICUs
- Surgical Theatres
- Nursing Homes
- Consulting Rooms
- Rest Rooms
- BioTechnology Labs
- Microbiology Labs
- Office Cabins
- Waiting Rooms
- Flight Kitchens
- Hotel Rooms

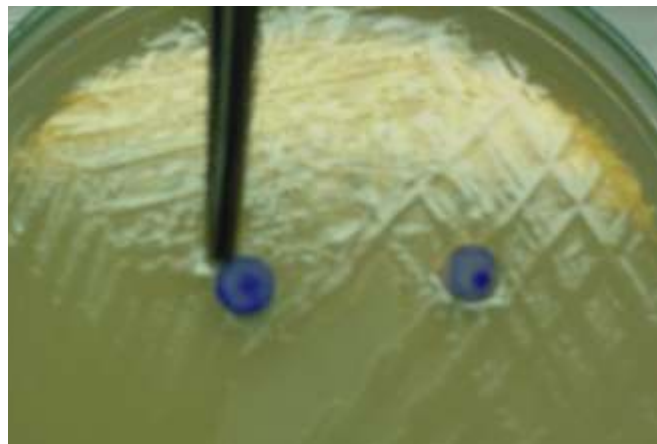


Используются для дифференциации представителей родов *Neisseria*, *Alcaligenes*, *Aeromonas*, *Vibrio*, *Campylobacter* и *Pseudomonas* (обладают оксидазной активностью) от энтеробактерий (оксидазоотрицательные).

Принцип и оценка результата :

Во флакончиках находятся стерильные диски из фильтровальной бумаги, пропитанные оксалатом N,N-диметил-р-парафенилендиамина, аскорбиновой кислотой и -нафтолом. С использованием таких дисков отпадает необходимость в ежедневном приготовлении свежего реактива на оксидазу. Для осуществления дыхания (биологического окисления с целью получения энергии) у некоторых бактерий имеется цитохромоксидаза, либо индофенолоксидаза железосодержащий белок, гемопротейн, который катализирует перенос электронов от вещества-донора (например, НАД-Н) к веществам-реципиентам (обычно O₂). Бесцветный N,N-диметил-парафенилендиамин служит искусственным реципиентом электронов. В ходе оксидазного теста из него в результате окислительно-восстановительных реакций с участием микробной оксидазы образуется индофенол вещество синего цвета. Оксидазный тест полезен для первичной характеристики аэробных грамотрицательных бактерий из родов *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Pseudomonas*, *Campylobacter* и *Pasteurella*.

Gordon и McLeod (1), используя способность некоторых бактерий в ходе окислительно-восстановительных реакций образовывать индофенол из диметилпарафенилендиамина и -нафтола, предложили применять оксидазный тест для идентификации гонококков. Gaby и Hadley (2) предложили использовать более чувствительный метод с использованием оксалата N,N-диметил-р-парафенилендиамина (при этом все стафилококки стабильно давали отрицательный результат). В случае положительной реакции (наличие цитохромоксидазы) из оксалата N,N-диметил-парафенилендиамина и



-нафтола образуется синий индофенол.

Указания по применению :

Оксидазный тест проводят путем снятия микробной колонии и растирания ее по оксидазному диску. Учет реакции ведут в течение 5-10 секунд при 25-30°C. Замедленные положительные реакции появляются через 10-60 секунд. Отсутствие изменения цвета на диске или развитие окраски через 60 и более секунд расценивают, как отрицательную реакцию.

Культуральные свойства :

Реакции референс-штаммов в течение 5-10 секунд при 25-30°C.

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Реакция (результат)	Цвет
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)	+	Темно-лиловый, синий
<i>Staphylococcus aureus</i> (25923)	-	-
<i>Neisseria gonorrhoeae</i> (19424)	+	Темно-лиловый, синий
<i>Escherichia coli</i> (25922)	-	-

Внимание! (Note)

- ⌚ Во избежание ложноположительных реакций не применяйте стальную или нихромовую проволоку для оксидазного теста, т. к. возможно поверхностное окисление этих металлов.
- ⌚ Для оксидазного теста не подходят культуры, выращенные на средах и индикаторах (например, на среде Эндо, МакКонки и др.).
- ⌚ Для учета результатов важно соблюдение временного интервала (5 - 10 сек).
- ⌚ Оксидазный тест, ввиду его важности для идентификации, надо проводить со всеми грамотрицательными бактериями.
- ⌚ Выработка цитохромоксидазы может подавляться на средах, где идет ферментация углеводов (например, на агаре МакКонки), поэтому возможны ложноотрицательные результаты теста с культурами родов *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*.



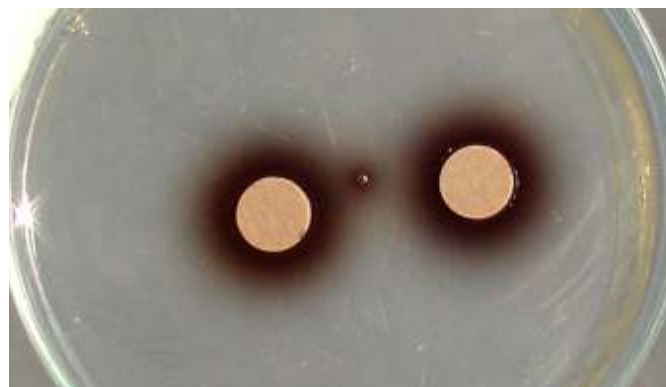
Используются для определения гидролиза эскулина в присутствии желчи, что имеет значение для дифференциации энтерококков от стрептококков.

Принцип и оценка результата :

Реагент представляет собой стерильные диски из фильтровальной бумаги, пропитанные эскулином и желчью. Rochaix (14) предложил учитывать способность к гидролизу эскулина, как важный критерий в идентификации энтерококков. Meyer и Schonfeld (15) отметили, что при добавлении в среду желчи около 60% энтерококков растут и расщепляют эскулин, в отличие от стрептококков. В сравнительном исследовании Facklam и Moody (18) обнаружено, что желче-эскулиновый тест позволяет идентифицировать стрептококки группы D (энтерококки) и дифференцировать их от стрептококков других групп. Энтерококки гидролизуют эскулин до глюкозы и эскулетина, который реагирует с цитратом железа, входящим в состав среды, в результате чего образуется коричнево-черный преципитат. При отрицательной реакции цвет среды не меняется (17).

Указания по применению :

Нанесите один диск с эскулином и желчью на поверхность засеянной основы желче-эскулинового агара (M430) и инкубируйте чашку при 35-37°C в течение 18-24 часов.



Культуральные свойства :

Результаты теста референс-штаммов с дисками через 18-24 ч при 35-37°C:

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Гидролиз эскулина
<i>Streptococcus faecalis</i> (29212)	+
<i>Streptococcus pyogenes</i> (19615)	-
<i>Listeria monocytogenes</i> (19118)	+

Примечание: + = положительный результат (почернение среды вокруг диска);
- = отрицательный результат (цвет среды не изменяется).

Полоски с реактивом Ковача (на индол)

DD019

Используются для обнаружения микроорганизмов, продуцирующих индол.

Принцип и оценка результата :

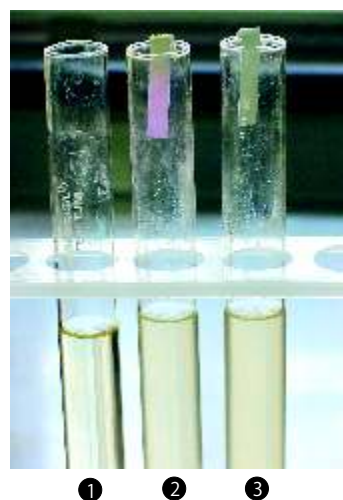
Реагент представляет собой полоски из фильтровальной бумаги, пропитанные реактивом Ковача. Реактив Ковача готовят путем растворения 10 г парадиметил-аминобензальдегида в 150 мл изоамилового спирта с последующим медленным добавлением 50 мл концентрированной соляной кислоты. Участвующий в процессе гидролитического расщепления триптофана комплекс ферментов условно называют триптофаназой (17). При ферментации микроорганизмами триптофана образуется индол. Последний при взаимодействии с бензальдегидом образует окрашенные в красный цвет соединения «розиндолы».

Для приготовления пептонной воды, содержащей большое количество триптофана, используют пептический перевар животной ткани (пептон). Для определения продукции индола представителями колиформных бактерий в качестве альтернативы применяют триптонную воду (18).

Указания по применению :

Для определения индола испытуемые микроорганизмы засевают в пробирку с пептонной водой (M028), а полоску с реактивом Ковача прижимают пробкой к внутренней стенке пробирки и инкубируют посев при 35-37°C в течение 18-24 часов.

Культуральные свойства :



1. Control
2. *Escherichia coli*

Результаты теста на индол у референс-штаммов на пептонной воде (M028) через 18-24 ч при 35-37°C:

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Индол
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Обильный	+
<i>Enterobacter aerogenes</i> (13048)	Обильный	-

Примечание: + = положительный результат (появление розового окрашивания в нижней части полоски);
- = отрицательный результат (цвет полоски не изменяется).

(*Bacillus stearothermophilus* ATCC 7953)

Используются для контроля эффективности процесса стерилизации водяным паром. Данные индикаторы готовятся в соответствии с правилами GMP по рецептуре MIL-S-36586, одобренной американскими специалистами FDA.

Принцип и оценка результата :

Полоски представляют собой хроматографическую бумагу, пропитанную спорами *Bacillus stearothermophilus*. Каждая полоска имеет индивидуальную упаковку и содержит около 1 миллиона микроорганизмов. *Bacillus stearothermophilus* это термофильные бактерии, растущие при температурах 65°C и выше. Их споры высоко устойчивы к тепловому воздействию, поэтому их применяют для контроля стерилизации водяным паром (19).

Указания по применению :

Разложите биотесты среди стерилизуемого материала в местах, трудно доступных для пара, а также в геометрическом центре, верхней и нижней, фронтальной и задней плоскостях загруженного материала, подлежащего стерилизации. Проведите стерилизацию в соответствии с установленным режимом. По окончании цикла стерилизации биотесты с соблюдением правил асептики надо достать из стерилизатора и направить для исследования в лабораторию.

Все тесты на стерильность проводятся в чистой, свободной от пыли зоне, предпочтительно под небольшим

избыточным давлением стерильного воздуха при строгом соблюдении правил асептики.

Стерильными ножницами в условиях асептики отрезают конец упаковки, затем стерильным пинцетом достают индикаторную полоску и помещают ее в пробирку со стерильной Триптон-соевый бульон с дрожжевым экстрактом и генином (M207) или Триптон-соевом бульоном (M011), которые инкубируют при 55-60°C в течение 7 дней с ежедневным учетом результатов. Помутнение среды свидетельствует о неэффективности проведенной стерилизации.

Культуральные свойства :

Результаты теста через 7 дней после инкубирования в Триптон-соевом бульоне (M011), при 55°C:

Необработанный биотест	Обильный рост
Автоклавированный биотест	Рост отсутствует

Примечания: а) перед утилизацией биотесты или бульонные культуры *Bacillus stearothermophilus* необходимо автоклавировать при 121°C в течение 30 минут или более;
б) каждая полоска со спорами имеет индивидуальную упаковку, пропускающую пар.

Биотест для контроля «холодной» стерилизации

DD039

(*Bacillus pumilus* ATCC 27142)

Используются для контроля эффективности процесса стерилизации ионизирующим излучением. Данные индикаторы готовятся в соответствии с правилами GMP по рецептуре MIL-S-36586, одобренной американскими специалистами FDA.

Принцип и оценка результата :

Полоски представляют собой хроматографическую бумагу, пропитанную спорами *Bacillus pumilus* (ATCC 27142). Каждая полоска имеет индивидуальную упаковку и содержит около 1 миллиона микроорганизмов. *Bacillus pumilus* это бактерии, высоко устойчивые к действию радиации, поэтому их применяют для контроля стерилизации ионизирующим излучением (19).

Указания по применению :

Разложите биотесты среди стерилизуемого материала в местах, предположительно трудно доступных для действия радиации, а также в геометрическом центре, верхней и нижней, фронтальной и задней плоскостях загруженного материала, подлежащего стерилизации.

Проведите стерилизацию в соответствии с установленным режимом. По окончании цикла стерилизации биотесты с соблюдением правил асептики надо достать из рабочей камеры и направить для исследования в лабораторию.

Все тесты на стерильность проводятся в чистой, свободной от пыли зоне, предпочтительно под небольшим избыточным давлением стерильного воздуха при строгом соблюдении правил асептики.

Стерильными ножницами в условиях асептики отрезают конец упаковки, затем стерильным пинцетом достают индикаторную полоску и помещают ее в пробирку со стерильной Триптон-соевый бульон с дрожжевым экстрактом и генином (M207) или Триптон-соевый бульон (M011), которые инкубируют при 35-37°C в течение 7 дней с ежедневным учетом результатов. Помутнение среды свидетельствует о неэффективности проведенной «холодной» стерилизации.

Культуральные свойства :

Результаты теста через 7 дней после инкубирования Триптон-соевый бульон (M011) при

Необработанный биотест	Обильный рост
Облученный биотест	Рост отсутствует

Диски с гиппуратом натрия

DD035

Используются для определения гидролиза гиппурата натрия микроорганизмами, главным образом, стрептококками.

Принцип и оценка результата :

Стрептококки группы В (*Streptococcus agalactiae*) и некоторые энтерококки могут гидролизовать гиппурат натрия с образованием глицина и бензоата натрия. Глицин дезаминируется окислителем нингидрином, который при этом восстанавливается, приобретая лиловую окраску. Среда для данного теста должна содержать только гиппурат, поскольку нингидрин реагирует с любой свободной аминокислотой (7, 20). Таким образом, стрептококки группы В можно отличить от стрептококков групп А, С, F и G, которые не гидролизуют гиппурат. Некоторые стрептококки группы D и единичные «зеленящие» стрептококки тоже гидролизуют гиппурат. Как впервые показали Ayers и Rupp (21), по способности гидролизовать гиппурат натрия можно дифференцировать гемолитические стрептококки человеческого и коровьего происхождения. Facklam и соавт. модифицировали методику для предварительной идентификации стрептококков групп А, В и D (18). Тест на гидролиз гиппурата является одним из способов отличить -гемолитические стрептококки группы В коровьего происхождения от -гемолитических стрептококков группы В, обычно выделяемых от человека (18). Определение ферментативного гидролиза гиппурата с образованием бензойной кислоты также помогает дифференцировать -гемолитические стрептококки группы В от -гемолитических стрептококков группы А и стрептококков группы D, не относимых к энтерококкам (19).

Указания по применению :

Для определения гидролиза гиппурата натрия соответствующий диск помещают в Сердечно-мозговой бульон (М 2 1 0), засеянный -гемолитическими стрептококками, который затем инкубируют при 35-37°C в течение 48 ч. После инкубирования культуру центрифугируют и к 2 мл

надосадочной жидкости, перенесенной в другую пробирку, добавляют 2 мл раствора хлорида железа. После тщательного встряхивания через 10 минут наблюдают формирование в прозрачной жидкости коричневого преципитата.

Приготовление раствора хлорида железа :

Ингредиенты	г/100 мл
Железа хлорид	12,0г
Дистиллированная вода	94,6мл
Соляная к-та (конц.)	5,4 мл

Ход приготовления: (Procedure)

добавить примерно 75 мл дистиллированной воды в мерную колбу на 100 мл, затем, не касаясь стенок колбы, добавить 5,4 мл соляной кислоты. Добавить 12 г хлорида железа, растворить его, осторожно подогревая колбу и тщательно перемешивая ее содержимое. Довести объем до 100 мл дистиллированной водой. Готовый раствор имеет оранжевую окраску.

Культуральные свойства :

Результаты теста на гидролиз гиппурата натрия у референс-штаммов

Штаммы микроорганизмов (ATCC)		Рост
Гидролиз гиппурата		
<i>Enterococcus faecalis</i> (29212)	Обильный	-
<i>Streptococcus agalactiae</i> (4768)	Обильный	+

Примечание: + = положительный результат (появление коричневого преципитата через 10 мин после встряхивания смеси);
- = отрицательный результат (преципитат, если и образуется, то при встряхивании он растворяется).

Используются для определения сероводорода, продуцируемого микроорганизмами.

Принцип и оценка результата :

Реактив представляет собой полоски фильтровальной бумаги, пропитанные ацетатом свинца. Некоторые микроорганизмы способны ферментативным путем освобождать серу из серосодержащих соединений аминокислот или неорганических веществ. Образующийся при этом сероводород вступает в реакцию с ацетатом свинца с образованием сульфида свинца и, соответственно, наблюдается почернение индикаторной

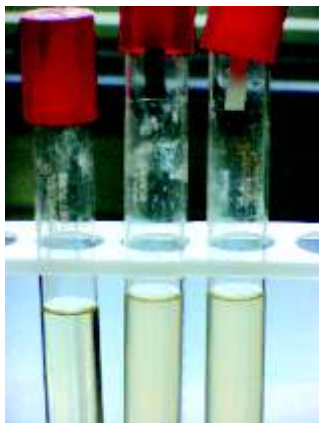
полоски. Ацетат свинца является самым чувствительным реактивом на сероводород, поэтому такой индикатор используют для тестирования микроорганизмов, выделяющих микроколичества сероводорода.

Указания по применению :

Для определения сероводорода испытуемые микроорганизмы засевают в пробирку с пептонной водой (M028), полоску с ацетатом свинца прижимают пробкой к внутренней стенке пробирки и инкубируют посев при 35-37°C в течение 18-24 часов.

Культуральные свойства :

Результаты теста на сероводород у референс-штаммов на Пептонной воде (M028) через 18-24 ч при 35-37°C:



1. Control
2. *Salmonella* серовар *Typhimurium*

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Рост	Сероводород
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Обильный	-
<i>Salmonella</i> серовар <i>Typhimurium</i> (14028)	Обильный	+
<i>Salmonella</i> серовар <i>Enteritidis</i> (13076)	Обильный	+

Примечание: + = положительный результат (почернение нижней части полоски);
- = отрицательный результат (цвет полоски не изменяется).

with Remote control

FOR MONITORING THE MICROBIAL QUALITY OF CRITICAL ENVIRONMENTS

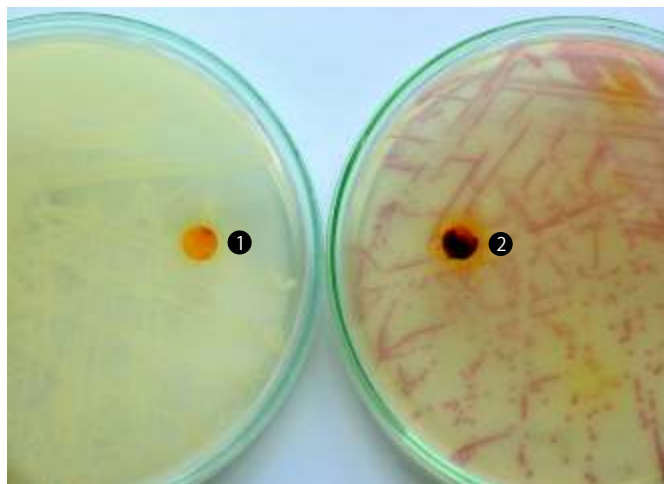
LA053

New

Fully automatic air sampler for standard 90 mm petri plates, with new foldable stand

Remote Controlled operation for sampling in ultra sensitive areas

Используются для определения способности микроорганизмов продуцировать индол при расщеплении молекулы триптофана, что помогает дифференцировать *Escherichia coli* и клебсиеллы.



1. *S. aureus* 2. *Escherichia coli*

Принцип и оценка результата :

В присутствии кислорода некоторые бактерии могут расщеплять триптофан на индол и -аминопропионовую кислоту. Присутствие индола можно определить путем добавления парадиметиламинокоричного альдегида (DMACA) по развитию голубовато-лилового окрашивания (17).

Указания по применению :

Для определения индола диск с реактивом DMACA накладывают на испытуемую колонию, выросшую на агаре HiCrome UTI (M1353) или на модифицированном агаре HiCrome UTI (M1418). Затем в течение 10-30 секунд наблюдают развитие голубовато-лилового окрашивания диска.

Культуральные свойства :

Результаты теста на индол у референс-штаммов:

Штаммы микроорганизмов (ATCC)	Реакция
<i>Escherichia coli</i> (25922)	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (27853)	-
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (13883)	-

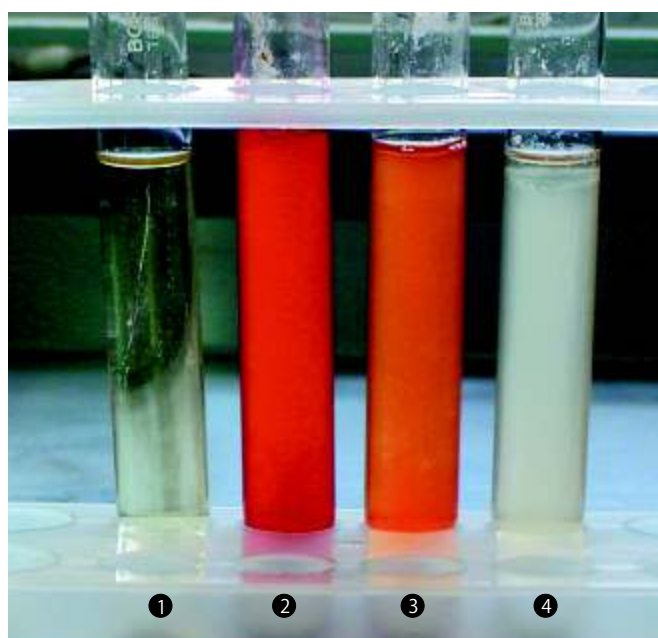
Примечание: + = положительный результат (появление голубовато-лилового окрашивания диска);
- = отрицательный результат (цвет диска не изменяется).

Используются в качестве субстрата для определения нитратредуктазной активности микроорганизмов.

Принцип и оценка результата :

Восстановление нитратов (NO_3) до нитритов (NO_2) и газообразного азота (N_2) обычно происходит в анаэробных условиях, когда осуществляется т. н. нитратное дыхание перенос электронов от окисляемого субстрата на нитраты (22). Большинство факультативных анаэробов для получения энергии в бескислородной среде пользуются нитратным или другими типами дыхания, при которых акцептором электронов является не кислород, а неорганические вещества (23). Конечные продукты восстановления нитрата зависят от видовой принадлежности микроорганизма, но чаще конечным продуктом является молекулярный азот (23). Обычно эти продукты далее не участвуют в клеточном метаболизме и не окисляются, а выделяются в окружающую среду.

Данный тест предназначен для определения микробной нитратредуктазы, которая в присутствии подходящего окисляемого субстрата восстанавливает нитрат до нитрита. Появление нитрита определяют колориметрическими методами. Почти все энтеробактерии восстанавливают нитраты. Когда нитратредуцирующие культуры растут в присутствии диска, содержащего субстрат (нитрат калия), микробная нитратредуктаза восстанавливает его до нитрита, который



1. Control 2. *Salmonella* serotype Typhimurium

можно определить с помощью специальных реактивов - нафтиламина (R009) и сульфаниловой кислоты (R015).

Указания по применению :

Асептически внести нитратный диск в 5 мл пептонной воды (M028), засеянной испытуемыми микроорганизмами, и инкубировать пробирку при 35-37°C в течение 18-24 часов. Внести в пробирку после инкубирования по несколько капель каждого (R009 и R015) реактива. Развитие красного или розового окрашивания свидетельствует о присутствии нитрита и, следовательно, восстановлении нитрата.

В качестве отрицательного контроля желателно использовать пробирку с незасеянной средой. Если после добавления реактивов окрашивание не развивается, в ту же пробирку вносят небольшое количество цинкового порошка, который химическим путем восстанавливает имеющийся в среде нитрат до нитрита, что способствует появлению розово-красного окрашивания (17).

Культуральные свойства :

Реакции референс-штаммов:

Штаммы микроорганизмов (АТСС)	Рост	Восстановление нитрата
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (19606)	Хороший	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> (13048)	Хороший	+
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Хороший	+
<i>Salmonella</i> серовар Typhimurium (14028)	Хороший	+

Примечание: + = положительный результат (появление красного или розового окрашивания среды);
- = отрицательный результат (цвет среды не изменяется).

Диски с реактивом на нитриты

New

DD042

Используются в качестве индикатора для определения нитратредуктазной активности микроорганизмов.

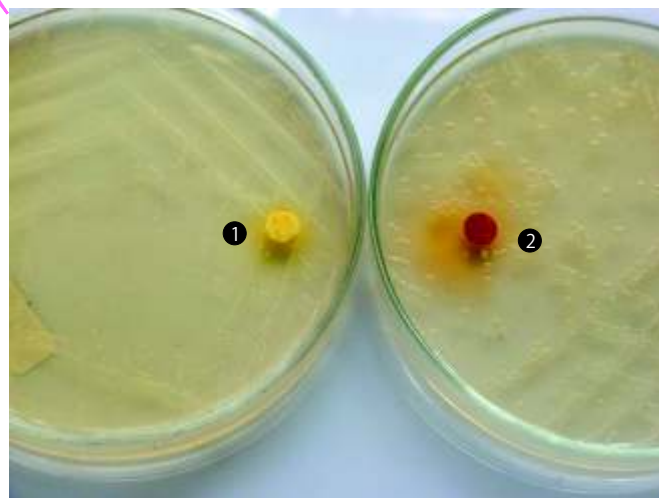
Принцип и оценка результата :

Восстановление нитратов (NO_3) до нитритов (NO_2) и газообразного азота (N_2) обычно происходит в анаэробных условиях, когда осуществляется т. н. нитратное дыхание - перенос электронов от окисляемого субстрата на нитраты (22). Большинство факультативных анаэробов в бескислородной среде для получения энергии пользуются нитратным или другими типами дыхания, при которых акцептором электронов является не кислород, а неорганические вещества (23). Конечные продукты восстановления нитрата зависят от видовой принадлежности микроорганизма, но чаще конечным продуктом является молекулярный азот (23). Обычно эти продукты далее не участвуют в клеточном метаболизме и не окисляются, а выделяются в окружающую среду.

Данный тест предназначен для определения микробной нитратредуктазы, которая в присутствии подходящего окисляемого субстрата восстанавливает нитрат до нитрита. Появление нитрита определяют колориметрическими методами. Почти все энтеробактерии восстанавливают нитраты. Когда диск с реактивом накладывают на колонию нитратредуцирующего микроорганизма, выросшего на агаре с нитратом, развивается розово-красное окрашивание.

Указания по применению :

Испытуемую культуру выращивают на подходящем агаре с добавлением субстрата (нитрата), например, Нитратный агар (код M072 по каталогу HiMedia). Затем на подозрительную колонию накладывают диск. Появление красно-розового окрашивания диска в течение 2-10 минут свидетельствует о наличии у микроба нитратредуктазной активности.



Культуральные свойства:

Реакции референс-штаммов:

Штаммы микроорганизмов (АТСС)	Рост	Восстановление нитрата
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i> (19606)	Хороший	-
<i>Enterobacter aerogenes</i> (13048)	Хороший	+
<i>Escherichia coli</i> (25922)	Хороший	+
<i>Salmonella</i> серовар Typhimurium (14028)	Хороший	+

Примечание: + = положительный результат (появление красного или розового окрашивания диска);
- = отрицательный результат (цвет диска не изменяется).

Диски с углеводами

Используются для дифференциации микроорганизмов по их способности ферментировать различные углеводы.

Ферментация углеводов :

Микроорганизмы, способные к ферментации того или иного углевода, выращивают в питательной среде с соответствующим диском и индикатором Андреде, который под действием кислых продуктов расщепления углевода изменяет первоначальный соломенно-желтый цвет на красный (3).

Принцип и оценка результата:

Ферментация микроорганизмами специфического углевода приводит к образованию кислоты или кислоты и газа. Эти характеристики учитываются при идентификации и дифференциации бактерий (18, 19).

При добавлении диска в питательную среду происходит диффузия углевода из него в среду. В процессе ферментации сахара образуется кислота (или кислота и газ), что приводит к изменению цвета индикатора в питательной среде (например, феноловый красный меняет цвет с красного на оранжево-желтый).

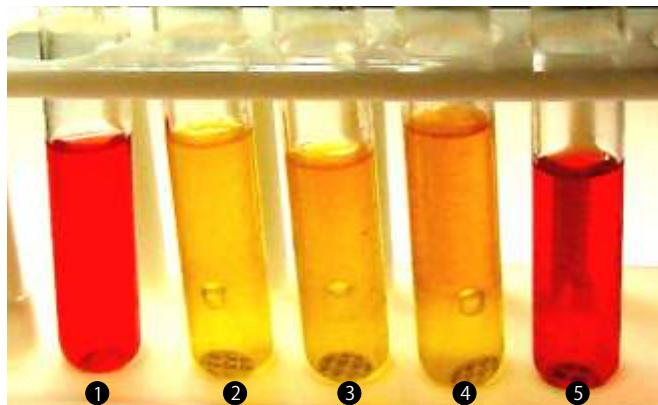
Для тестов на ферментацию углеводов могут быть использованы следующие диски:

№ по каталогу	Субстрат	
DD025	Адонит	Ad
DD001	Арабиноза	Ar
DD028	Целлобиоза	Ce
DD002	D-Глюкоза	De
DD003	Дульцит	Du
DD016	Галактоза	Ga
DD017	Фруктоза	Fc
DD027	Инозит	Is
DD026	Инулин	In
DD004	Лактоза	La
DD005	Мальтоза	Ma
DD006	Маннит	Mn
DD007	Манноза	Mo
DD030	Мелибиоза	Mb
DD029	Раффиноза	Rf
DD010	Рамноза	Rh
DD011	Салицин	Sa
DD012	Сорбит	Sb
DD013	Сахароза	Su
DD031	Трегалоза	Te
DD014	Ксилоза	Xy

Указания по применению :

Готовится и стерилизуется подходящая питательная среда без углеводов. Для данного теста можно рекомендовать следующие питательные среды.

ЖИДКИЕ СРЕДЫ :



1. Alkaligenes fecalis with DD013 – with DD004 ↗
2. Escherichia coli
3. Proteus vulgaris with DD002 ↗
4. Salmonella серовар Typhimurium with DD006 ↗
5. Control

- M885 Пептонная вода с индикатором Андреде
M909 Пептонная вода с мясным экстрактом и индикатором Андреде
M054 Основа бульона с феноловым красным
M279 Основа бульона с мясным экстрактом и феноловым красным
M284 Основа бульона с бромкрезоловым пурпурным
M676 Бульон с бромкрезоловым пурпурным

ПОЛУЖИДКИЕ СРЕДЫ:

- M159 Триптон-цистиновый агар
M395 Основа среды ХьюЛейфсона для теста ОФ
M319 Основа триптонного агара

ПЛОТНЫЕ СРЕДЫ :

- M053 Основа агара с феноловым красным
M098 Основа агара с бромкрезоловым пурпурным
M288 Агар Сандерса

На выбор можно использовать любую из перечисленных сред. Жидкие и полужидкие среды после приготовления разливают по 5 мл в пробирки и стерилизуют. После посева испытуемого микроорганизма в каждую пробирку асептически помещают по 1 диску с соответствующим углеводом. В случае полужидкой среды диск погружают по ходу посева на небольшое расстояние от поверхности среды так, чтобы нижняя часть ее служила отрицательным контролем ферментации, наблюдаемой в верхней части. При использовании плотных сред на одной чашке можно определять ферментацию культурой ряда углеводов. После распределения испытуемой культуры по поверхности выбранного питательного агара на него наносят и слегка прижимают диски с углеводами (на расстоянии 2 см друг от друга). Чашку инкубируют в течение 18-48 часов при 35-37°C. Результаты учитывают через 18 и 48 часов. Желательно часто просматривать результаты, так как возможна их быстрая реверсия. В жидких средах образующаяся кислота способствует окрашиванию среды в красный цвет, а газ скапливается в

поплавке. В полужидких средах газ виден в толще среды (пузырьки). На агаровых средах о ферментации углевода свидетельствует изменение цвета среды вокруг диска.

References :

1. Kilian M., 1980, In Manual of Clinical Microbiology, Lennette et al (Eds.), Amer. Soc. for Microbiol., 3rd ed., Washington.
2. Bowers E.F. and Jeffries L.R., 1995, J. Clin. Path., 8:58.
3. Maxted W.R., 1953, J. Clin. Path., 6:234.
4. Levinson M.L. and Frank P.F., 1955, J. Bact., 69:234.
5. Streamer C.W. et al, 1962, Am. J. Dis. Children, 104:157.
6. Guthof O., 1960, Ztschr. F Hyg. u. Infektionskr., 146:425.
7. Facklam, R.R. et al, 1974, Appl. Microbiol., 27:102113.
8. Levinson M.L. and Frank P.F., 1955, J. Bact., 69:234.
9. Streamer C.W. et al, 1962, Am. J. Dis. Children, 104:157.
10. Lowe G.H., 1962, J. Med. Lab. Technol., 19:21.
11. Gordon J. and McLeod J.W., 1928, J. Path. Bact., 31:185.
12. Gaby W.L. and Hadley C., 1957, J. Bact., 74:356.
13. Steel K.J., 1962, J. Appl. Bact., 25:445.
14. Rochaix, 1924, C. R. Soc. Biol., 90:771.
15. Meyer and Schonfeld, 1926, Zentralbl. Bacteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. Abt. I Orig., 99:402.
16. Facklam and Moody, 1970, Appl. Microbiol., 20:245.
17. MacFaddin J. F., 1980, Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria, 2nd ed., Williams and Wilkins, Baltimore.
18. Greenberg A.E., Trussell R.R. and Clesceri L.S. (Eds.), 1985, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 16th ed., APHA, Washington, D.C.
19. Mackie and McCartney, 2000, Practical Medical Microbiology, 14th ed., Vol. 2, Collee, Duguid, Fraser and Marmion (Eds.), Churchill Livingstone, Edinburgh.
20. Finegold and Baron, 1990, Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology, 8th ed., The C.V. Mosby Co., St. Louis.

Хранение и срок годности:

Условия и сроки хранения указаны на этикетке продукта. Диски с фактором V должны храниться при температуре ниже -20°C . Не используйте диски и полоски после истечения срока годности.

ВНИМАНИЕ:

материалы надо держать во влагонепроницаемых контейнерах с поглотителем влаги. Перед тем, как открыть контейнер, надо дать ему нагреться до комнатной температуры.

Производитель и экспортер диагностических и культуральных питательных сред, оборудования и расходных материалов для баклабораторий

Международный сертификат качества ISO 9001

Профиль продукции

- Сухие и готовые к употреблению питательные среды
- Компоненты: бактериологический агар, пептоны, желчь и соли желчных кислот, дрожжевой, мясной и др. экстракты
- Питательные среды для культур клеток
- Диски с антибиотиками и диспенсер для картриджей,
- Пластиковая посуда и разные типы тампоны для биологических образцов
- Транспортные системы
- Флаконы для гемокультур
- Металлические и пластиковые бактериологические петли
- Лабораторные реактивы и биохимикаты высокой очистки



Продукция зарегистрирована в Минздраве России и разрешена к применению на территории РФ.

По всем вопросам обращаться по:
Адрес: 124498, Москва, а/я 130.
тел.: (095) 536-43-00



www.himedialabs.com

HiMedia Laboratories Pvt. Limited

A-406, Bhaveshwar Plaza, LBS Marg, Mumbai - 400 086, India.

Fax : 00-91-22-2500 5764, 2500 2468, 2500 2286 Phone : 2500 0970, 2500 3747, 2500 1607, 2500 0653

Email : info@himedialabs.com / sarojw@giasbm01.vsnl.net.in Website : www.himedialabs.com