



## ИНСТРУКЦИЯ По применению набора реагентов

### Готовая питательная среда Хромогенный агар для уропатогенных бактерий

#### НАЗНАЧЕНИЕ

Изолирование и подсчет патогенов мочи. Прямая идентификация *E.coli*, *Proteus* и *Enterococci*.

#### ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

#### ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Среда позволяет: изолировать и подсчитывать все микроорганизмы мочевыводящих путей с использованием стандартной бактериологической петли и чашек с агаризованной средой; по визуально фиксируемой ферментативной активности напрямую подсчитывать бактерии, наиболее часто ответственные за инфекции мочевого тракта: *E.coli*, *Proteus* и *Enterococci*; ориентировочно определять другие патогены, в особенности К.Е.С. группу энтеробактерий (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*).

*E.coli* определяется по активности двух ферментов:  $\beta$ -галактозидазы и триптофаназы;  $\beta$ -галактозидаза разрушает хромогенный субстрат, содержащийся в среде, и окрашивает колонии в розовый цвет; *Proteus* характеризуется триптофан дезаминазной активностью; *Proteus mirabilis* индол-негативный; *Enterococci* продуцируют  $\beta$ -глюкозидазу (эскулиназу), которая разрушает второй хромогенный субстрат, содержащийся в среде, и окрашивая колонии в бирюзово-синий цвет.

#### СОСТАВ НАБОРА

Готовая к использованию среда **Хромогенный агар для уропатогенных бактерий**  
**Ч0816** упаковка 20 или 100 чашек Петри (90 мм)

#### СОСТАВ СРЕДЫ

Неселективная агаризованная среда, состоящая из:

- богатой питательной основы, содержащей пептоны, необходимые для роста всех патогенов мочевыводящего тракта;
- два хромогенных субстрата для обнаружения бактериальных ферментов  $\beta$ -галактозидазы и  $\beta$ -глюкуронидазы;
- и триптофан для обнаружения триптофаназной активности (продукция индола и триптофан дезаминазной активности (TDA))

#### МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для диагностики *in vitro*.
- К работе допускается только квалифицированный персонал.
- Данный набор содержит вещества животного происхождения. Сертификат происхождения и/или санитарного состояния животных, от которых были получены данные материалы, не гарантирует отсутствия трансмиссивных патогенных микроорганизмов.

Рекомендуется обращаться с этими веществами как потенциально опасными и в соответствии с принятыми нормами (не вдыхать, не глотать).

- При работе с образцами и микробными культурами необходимо соблюдать стерильность в соответствии с законодательством и нормативными актами Российской Федерации, соблюдение "*Правил устройства, техники безопасности, производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения СССР*" (Москва, 1981 г.).
- Не используйте среды в качестве компонентов и сырья для производства.
- Не используйте реактивы по истечении срока годности.
- Не используйте флаконы и чашки со следами контаминации.
- Перед использованием убедитесь в целостности упаковки и емкости.
- При работе следуйте инструкции. Любые изменения описанной процедуры могут привести к искажению результатов.
- При интерпретации результатов необходимо принимать во внимание анамнестические данные больного, источник выделения микроорганизма, морфологию колоний, данные клеточной микроскопии, а также результаты других проведенных исследований.

#### АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Среда предназначена для работы с любыми типами образцов. Посев производится непосредственно на поверхность агара. Соблюдайте правила транспортировки и хранения образцов.

#### ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

##### Нанесение на чашки

- Используйте стандартную бактериологическую петлю.

- Держа петлю вертикально, погрузите ее в мочу. Распределите мочу по агару вдоль одного диаметра (1)
- Не погружая петлю вторично, начните движение петли сверху вниз зигзагообразным движением перпендикулярно первому мазку.

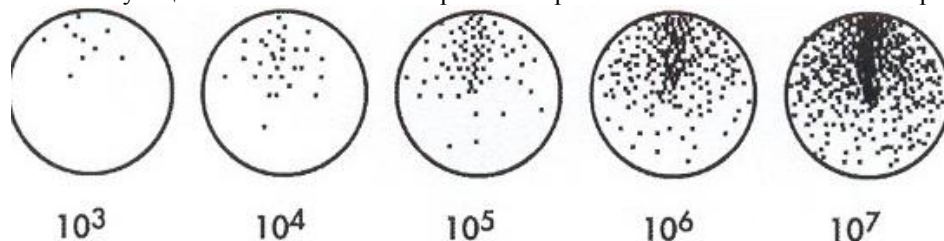
### Инкубирование

Инкубируйте чашку при 37 °C в течение 18 – 24 ч.

### Интерпретация результатов

Подсчет

После инкубации в течение 18 –24 ч при 37 °C сравните плотность колоний в верхней половине чашки с рисунком:



Количество, равное 10(4) или менее обычно свидетельствует о контаминации, но должно интерпретироваться в соответствии с количеством лейкоцитов и клинической картиной.

Количество, равное 10(5) или более обычно свидетельствует об инфекции, если проба мочи собрана правильно.

### РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Идентификация микроорганизма основана на цвете колоний.

#### РОЗОВЫЙ

β-галактозидазная активность доказывает присутствие *E.coli*, однако требуется подтверждение продукции индола. Положительный тест окончательно подтверждает результат первичной идентификации, отрицательный результат требует проведения идентификации обычными методами. Выявление продукции индола

Для культур, содержащих только один вид микроорганизмов, нанесите одну каплю реагента Ковача на отдельную колонию прямо на агар:

- если цвет реагента изменится на розовый менее чем за 15 секунд, организм индол «+»;

- если реагент не изменит цвет в течение 15 секунд, организм индол «-».

Для культур, содержащих несколько видов микроорганизмов, проводите этот тест, используя методику, описанную в «Комментариях».

#### БИРЮЗОВО-СИНИЙ

β-галактозидазная активность: исследуйте культуру под микроскопом. Кокки, маленькие колонии (0,5 - 1.5 мм в диаметре) яркого бирюзово-синего цвета – энтерококки. Если недостает одной из этих характеристик, проводите идентификацию, используя обычные методы.

#### СИНЕ-ФИОЛЕТОВЫЙ

β-галактозидазная и β-глюкуронидазная активность: исследуйте культуру под микроскопом. Бациллы, крупные колонии (2.0 - 3.0 мм в диаметре) сине-фиолетового цвета ориентировочно относятся к группе KES микроорганизмов (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) и требует идентификации обычными методами.

#### ОРАНЖЕВО-КОРЕЧНЕВЫЙ (с изменением в агаре на коричневый)

Триптофан дезаминазная активность (TDA +) свидетельствует о принадлежности организма к группе *Proteus-Providencia-Morganella*.

(Если окрашивание слабое, работа фермента может быть усилена нанесением капли хлорида железа(III) на колонию: за несколько секунд реагент приобретает коричнево-зеленое окрашивание).

Тест на продукцию индола:

Для культур, содержащих только один вид микроорганизмов, нанесите одну каплю реагента Ковача на коричневую колонию:

- если цвет реагента изменится на розовый менее чем за 15 секунд, значит организм: индол «+» *Proteus*, *Providencia* или *Morganella*. Точная идентификация должна проводиться обычными методами.

- если реагент не изменяет цвет в течение 15 секунд, организм индол «-», *Proteus mirabilis*.

Для культур, содержащих несколько видов микроорганизмов, проводите этот тест, используя методику, описанную в «Комментариях».

#### БЕЛЫЕ ИЛИ БЕСЦВЕТНЫЕ

Идентификация обычными методами.

### ПРОФИЛИ НАИБОЛЕЕ ЧАСТО ВСТРЕЧАЮЩИХСЯ ОРГАНИЗМОВ

Бактерии	КОЛОНИИ	ХАРАКТЕРИСТИКИ			
	цвет	β-галактозидаза	β-глюкозидаза	индол	TDA
<i>E.coli</i>	Розовый	+	-	+	-

Proteus mirabilis	Оранжево-коричневый	-	-	-	+
Индол «+»: Proteus Morganella Providencia	Оранжево-коричневый	-	-	+	+
Энтерококки	Бирюзово-синий	+	-	-	+
К.Е.С. энтеробактерии	Сине-фиолетовый	+(-)*	+	+/-	-

\* Крайне редко некоторые штаммы группы К.Е.С. имеют слабую  $\beta$ -галактозидазную активность: цвет колоний может варьировать между сине-фиолетовым и бирюзово-синим.

#### КОММЕНТАРИИ

##### 1. $\beta$ -галактозидаза

- Более 99 % штаммов *E.coli* имеют  $\beta$ -галактозидазную активность.
- Лишь небольшая часть штаммов других микроорганизмов (не *E.coli*) продуцируют  $\beta$ -галактозидазу и дают розовые колонии на среде. Часть из них редко встречается при патологии мочевого тракта (сальмонеллы, шигеллы, стрептококки группы А); другая часть является индол-негативной (цитробактер, стафилококки, стрептококки группы В).

2. Лишь малая часть штаммов *E.coli* является индол-негативной.

##### 3. $\beta$ -глюкозидаза

- Среди стрептококков только энтерококки имеют  $\beta$ -глюкозидазу, что окрашивает колонии в яркий бирюзово-синий цвет.

Слабо голубые колонии кокков не обязательно являются энтерококками и должны исследоваться обычными методами (как правило, это стрептококки групп А и В).

- Некоторые штаммы *Proteus vulgaris* и *Providencia rettgeri* продуцируют  $\beta$ -глюкозидазу.

##### 4. $\beta$ -галактозидаза + $\beta$ -глюкозидаза

- В основном бактерии группы К.Е.С. имеют и  $\beta$ -галактозидазную и  $\beta$ -глюкозидазную активность, а колонии окрашиваются в сине-фиолетовый цвет. Однако, некоторые штаммы этой группы могут иметь слабую  $\beta$ -галактозидазную активность и цвет колоний от сине-фиолетового до бирюзово-фиолетового

- Citrobacter diversus* дает сине-фиолетовые индол-негативные колонии.

5. Каталазный, оксидазный тесты и латексная агглютинация может выполняться напрямую с колоний, изолированных с Уриселект 4.

6. Обычные идентификационные процедуры и тесты антибиотикочувствительности могут проводиться напрямую с колоний, полученных на среде.

7. Индоловая проба для колоний, содержащих более одного микроорганизмы:

- Проба Ковача: перенесите 1-3 одинаковых колонии на бумагу для блоттинга. Добавьте одну каплю реагента Ковача. Индол-позитивные колонии дают ярко-розовое окрашивание, индол-негативные остаются неокрашенными.

- DMACA тест: перенесите 1-3 одинаковых колонии на бумагу для блоттинга. Добавьте одну каплю DMACA реагента. Индол-позитивные колонии дают бирюзово-синее окрашивание, индол-негативные остаются неокрашенными.

8. *Proteus penneri*, редко встречающийся организм, является TDA-позитивным и индол-негативным.

9. Во время растворения сухой среды на дне могут оставаться нерастворяющиеся частицы. Их присутствие не влияет на культуральные качества среды.

#### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Качество среды может быть проконтролировано с использованием следующих штаммов (18-24 ч при 37°C).

Штаммы	КОЛОНИИ		ХАРАКТЕРИСТИКИ			
	Ø в мм	цвет	$\beta$ -галактозидаза	$\beta$ -глюкозидаза	индол	TDA
<i>E.coli</i> ATCC 25922	2.0 или 3.0	Розовый	+	-	+	-
<i>E.coli</i> SDP 10.1.55	2.0 или 3.0	Розовый	+	-	+	-
<i>E.faecalis</i> ATCC 29212	1.0	Бирюзово-синий	-	+	-	-
<i>P.mirabilis</i> ATCC 25933	2.0	Оранжево-коричневый	-	-	-	+
<i>P.vulgaris</i> ATCC 13315	2.0	Оранжево-коричневый	-	-	+	+
<i>K.pneumonia</i> ATCC 13883	3.0	Сине-	+	+	-	-

		фиолетовый				
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	1.0 или 2.0	белый	-	-	-	-
<i>S. haemolyticus</i>	1.0 или 2.0	белый	-	-	-	-

#### ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Некоторые штаммы, имеющие специфические ростовые потребности, могут не образовать колоний на данной среде.
- Данная среда может быть использована в сочетании с другой селективной средой, в зависимости от типа образца и целей исследования

#### ХРАНЕНИЕ

Чашки с агаром следует хранить в оригинальной упаковке при 2-8°C до истечения срока годности.  
После вскрытия упаковки хранить не более 2 недель в целлофановом пакете при 2-8°C.

#### УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

Утилизируйте отходы в соответствии с требованиями, предъявляемыми для утилизации инфекционных материалов.  
Ответственность за утилизацию несут сотрудники лаборатории.

#### ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

При соблюдении соответствующих правил и инструкций - в пределах срока годности, указанной на упаковке продукта.  
По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу  
192102 Санкт Петербург Волковский пр 6 лит А тел (812)646-68-64