

Кат. N.: MLT00010

Для микробиологии

Набор НЕФЕРМтест 24 предназначен для рутинной идентификации грамотрицательных неферментирующих бактерий, а также представителей семейства *Vibrionaceae* (родов *Vibrio*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*), наиболее часто выделяемых из клинического материала. Набор содержит 10 стриппированных планшетов (по 4 стрипа на каждом) для идентификации соответственно 40 культур по 24 биохимическим тестам (3 ряда по 8 тестов). Тест на выявление цитохромоксидазы должен быть выполнен дополнительно до проведения идентификации на НЕФЕРМтесте 24 с помощью полосок ОКСИтест. Тест для определения способности ферментировать глюкозу (ОФ-тест, выполняемый микрометодом в планшете; поставляется отдельно), также необходимо провести для подтверждения выделенного изолята к неферментирующим бактериям.

**Набор НЕФЕРМтест24 содержит:**

- 10 микротитровальных пластинок (каждая для идентификации 4 штаммов) с силикагелем
- Инструкцию для пользователей с Идентификационной таблицей
- 40 бланков для регистрации результатов
- 10 полиэтиленовых пакетиков для инкубации
- Пакет для хранения частично использованной пластинки
- Крышка
- Цветная шкала для НЕФЕРМтест 24

**Хранение, срок годности:**

НЕФЕРМтест 24 следует хранить при температуре от+2 до +8°C. Срок годности указан на каждой упаковке.

**Инструкция к постановке НЕФЕРМтеста 24**

**Необходимые материалы (не входят в набор):**

- Парафиновое масло, стерильное (кат. N. MLT00042, 150 определений)
- Чашки Петри с культивационной средой (кровяной агар)
- Пробирки (100x15) с 3 мл стерильного незабуференного физиологического раствора для измерения мутности суспензии на ДЕНСИЛАМЕТРЕ II
- Прибор ДЕНСИЛАМЕТР II, кат. N. INS00062
- Автоматическая микропипетка, 0,1 мл, стерильные наконечники
- Инкубатор 37°C
- Традиционное оснащение микробиологической лаборатории (петли, маркеры, горелки)

**Рекомендуемый тест для подтверждения выделенных изолятов к неферментирующим бактериям:**

- ОФтест (кат. N. MLT00032, 288 определений)

**Дополнительные („off-line“) тесты:**

- ОКСИтест (кат. N. MLT00039, 50 определений)
- Реактив для теста ОКСИДАЗА (кат. N. MLT00022, 250 определений - служит для усиления цветной реакции)

**Внимание:** для правильной идентификации необходимо выполнить ОКСИтест. Результаты этого теста необходимы для создания кода при работе с Книгой кодов.

**Пособия для идентификации:**

- Книга кодов для НЕФЕРМтест 24 - расположена по адресу [www.erbalachema.com](http://www.erbalachema.com) (раздел Микробиология)
- Программа идентификации ErbaExpert

**Внимание:**

- Тест предназначен только для квалифицированного использования в микробиологической лаборатории.

**Строго соблюдать правила работы с инфицированным материалом!**

Мы рекомендуем проверять изменение цвета в лунках в случае положительной и отрицательной реакции по контрольным штаммам (см. ниже). Мы советуем также проверять изменения цвета в лунках каждой новой партии НЕФЕРМтеста 24.

**Выделение культуры:**

- Выделите чистую культуру, пользуясь общепринятыми в микробиологии методами на рекомендованной среде (кровяной агар). Для подтверждения принадлежности выделенных изолятов проведите ОФ-тест на способность ферментировать глюкозу (считывание результатов максимально через 4 ч).

**Приготовление бактериальной суспензии:**

- Из чистой 24-часовой культуры (или 48-часовой — для медленно растущих микроорганизмов) приготовьте суспензию в 3 мл стерильного незабуференного физиологического раствора. Суспензию хорошо перемешайте.
- Мутность суспензии должна соответствовать 2.0-2,5 ед. по шкале МакФарланда. Использование более густой или более жидкой суспензии может привести к получению неправильных результатов.

**Постановка дополнительного теста (ОКСИтест):**

- Определите наличие цитохромоксидазной активности у суточной культуры, результаты запишите в бланк анализа.

**Проверка чистоты культуры:**

- Для проверки чистоты тестируемой культуры сделайте посев приготовленной суспензии. Оцените результаты через 24 ч (при слабом росте оставьте чашку в термостате еще на 24 ч). Полученный таким образом материал может быть использован для постановки дополнительных тестов.

**Подготовка стриппированных пластинок:**

- Вскройте ножницами пакет из фольги, снимите защитную фольгу с планшета.
- Достаньте необходимое количество стрипов в соответствии с количеством исследуемых штаммов (стрипы трехрядные, т.е. 3x8 тестов для идентификации одного штамма), поставьте их в рамку.
- Неиспользованные стрипы уберите в пакет для частично использованных пластинок с силикагелем, положите в холодильник для последующего использования (хранить не более 4 нед.), предохраняя от влаги.
- Напишите номера штаммов на соответствующие стрипы

**Примечание:**

неравномерное распределение субстрата в лунке не влияет на функциональность теста.

**Инокуляция:**

- Хорошо гомогенизируйте приготовленную бактериальную суспензию.
- Внесите по 100 мкл суспензии в каждую лунку стрипа.
- Добавьте по две капли парафинового масла в лунки первого ряда H, G, F, E а D (тесты URE, ARG, ORN, LYS и AAM).

**Внимание:**

На крышке нанесены названия тестов и графические символы ●, обозначающие лунки, в которые необходимо добавить парафиновое масло до инкубации или реактивы после инкубации. Если Вы используете крышку многократно, обработайте ее этанолом.

**Инкубация:**

- После инокуляции закройте пластинку крышкой или поместите ее в полиэтиленовый пакет.
- Если Вы используете пакет, загнийте открытый пакет под пластинку, чтобы инокулят не высыхал при инкубации.
- Инкубируйте при 37 °C в течение 24 ч, при получении слабого роста продлите инкубацию еще на 24 ч.

**Внимание:** В случае идентификации *Pseudomonas putida* продлите время инкубации до 48 ч, поскольку сходные результаты можно получить при идентификации метаболически менее активного штамма *Pseudomonas aeruginosa*.

## Учет результатов:

- Считайте все результаты после инкубации и запишите их в бланк анализа.
- Для более комфортной работы (оценки изменения цвета в лунках) используйте цветную шкалу. Вы можете работать также и с таблицей **Интерпретация реакций** (см. в инструкции ниже) или оценивать изменение цвета по контрольным штаммам.

## Идентификация:

- Используйте программное обеспечение ErbaExpert или книгу кодов для набора НЕФЕРМтест24.
- Учитывайте все характеристики выделенной культуры: источник выделения, морфологию колоний, данные микроскопии и т.д. При идентификации грамотрицательных неферментирующих микроорганизмов важна и другая информация: пигментообразование и флюоресценция, способность расти при 42°C, гемолиз, рост на агаре МакКонки, каталазная активность, подвижность, способность разжижать желатину а также результаты дополнительных тестов (ОКСИтест и ОФтест) и т.д.
- В случае безуспешной идентификации следует повторить НЕФЕРМтест 24 или же дополнить идентификацию другими тестами.

## Примечание:

Для идентификации с помощью книги кодов необходимо подсчитать так называемый профиль (цифровой код) на бланке для регистрации результатов. Процесс создания профиля описан в книге кодов.

## Дезинфекция:

- После утилизации микротестсистемы обеззараживаются в дезинфицирующем растворе либо автоклавируются.

## Наиболее частые причины неудач при идентификации:

- Смешанная культура.
- Использование суспензий с недостаточной мутностью или в недостаточном объеме.
- Перекрестная контаминация суспензий в расположенных рядом лунках.
- Лунки с соответствующими тестами на заполнены парафиновым маслом.
- Неточное соблюдение требований инструкции.
- Выделен штамм с нетипичными свойствами или его данные не заложены в таблицы.

## Результаты тестирования набора:

Набор был протестирован на 104 штаммах.

- 82,6% культур были проидентифицировано верно.

## Контроль качества:

Химический контроль реактивов, используемых при производстве НЕФЕРМтеста 24, осуществляется стандартными методами. Произведенные партии проходят контроль с помощью контрольных бактериальных культур.

Если Вы хотите провести контроль качества на рабочем месте, мы рекомендуем использовать следующие штаммы:

- *Pseudomonas aeruginosa* CCM 1960 (ATCC 10145)
- *Myroides odoratus* CCM 3296 (ATCC 4651)
- *Burkholderia cepacia* CCM 3919
- *Enterobacter (Cronobacter) sakazakii* CCM 3461

Эти штаммы можно заказать в: ГИСК, Государственный НИИ стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов им. Л. А. Тарасевича, г. Москва, телефон 8 (499) 241-31-19. Культуры поставляются в ампулах в лиофилизированной форме.

## Внимание:

Для контроля функционирования набора должны быть использованы только свежие культуры данных штаммов. **Эти культуры не должны использоваться для проверки правильности или точности идентификации.**

**Меры предосторожности:** Набор реагентов не относится к категории опасных.

## Интерпретация реакций:

Столбец	Тест	Код	Реакция	
			положительная	отрицательная
<b>Ряд 1 (1-й, 4-й, 7-ой, 10-й ряд пластины)</b>				
H	Уреаза	URE	Красный, красно-оранжевый	Желтый, светло-оранжевый
G	Аргинин	ARG	Фиолетовый, синий	Зеленый
F	Орнитин	ORN	Синий, сине-зеленый	Желто-зеленый, зеленый
E	Лизин	LYS	Синий, сине-зеленый	Желто-зеленый, зеленый
D	Ацетамид	AAM	Сине-зеленый, зеленый	Желтый, желто-зеленый
C	β - глюкозидаза	bGL	Желтый, желтоватый	Бесцветный
B	N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза	NAG	Желтый, желтоватый	Бесцветный
A	Цитрат Симмонса	SCI	Синий, сине-зеленый	Желто-зеленый, зеленый
<b>Ряд 2 (2-й, 5-й, 8-й, 11-й ряд пластины)</b>				
H	Лактоза	LAC	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
G	Маннитол	MAN	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
F	Трегалоза	TRE	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
E	Ксилоза	XYL	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
D	Арабиноза	ARA	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
C	α - галактозидаза	aGA	Желтый, желтоватый	Бесцветный
B	β - галактозидаза	bGA	Желтый, желтоватый	Бесцветный
A	Малонат	MAL	Синий, сине-зеленый	Желтый, зеленый
<b>Ряд 3 (3-й, 6-ой, 9-й, 12-й ряд пластины)</b>				
H	Галактоза	GAL	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
G	Мальтоза	MLT	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
F	Целлобиоза	CEL	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
E	Сахароза	SUC	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
D	Инозитол	INO	Желтый, желто-серый	Фиолетовый, серо-фиолетовый
C	γ - глутамилтрансфераза	gGT	Желтый, желтоватый	Бесцветный
B	Фосфатаза	PHS	Желтый, желтоватый	Бесцветный, сливочный
A	Эскулин	ESL	Черный, темно-коричневый	Бежевый, светло-коричневый

**Контрольные штаммы:**

Ряд	H	G	F	E	D	C	B	A
<b>Pseudomonas aeruginosa CCM 1960</b>								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	+	-	-	+	-	-	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	d	d	+	+	-	-	+
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	-	-	-	-	+	s	-
<b>Myroides odoratus CCM 3296</b>								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	+	-	-	-	-	-	+	-
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	-	-	-	-	-	-	-	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	-	-	-	-	-	-	+	-
<b>Burkholderia cepacia CCM 3919</b>								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	-	+	+	d	-	+	s
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	d	+	d	d	d	d	d
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	-	d	+	+	-
<b>Enterobacter (Cronobacter) sakazakii CCM 3461</b>								
1	URE	ARG	ORN	LYS	AAM	bGL	NAG	SCI
	-	+	d	-	-	+	+	+
2	LAC	MAN	TRE	XYL	ARA	aGA	bGA	MAL
	+	+	+	+	+	+	+	-
3	GAL	MLT	CEL	SUC	INO	gGT	PHS	ESL
	+	+	+	+	d	+	s	+

**Обозначения:** + = положительная реакция    - = отрицательная реакция    s = слабая реакция    d = варибельная реакция

**ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ СИМВОЛЫ**



Номер каталога



Ин витро диагностика



Производитель



Перед использованием  
Внимательно изучайте инструкцию



Номер партии



Температура хранения



Срок годности



Национальный знак  
соответствия для Украины

