

Enteropluri-Test

Идентификационная система для микроорганизмов семейства Enterobacteriaceae и других грам-отрицательных, оксидаза-отрицательных бактерий

Описание

Enteropluri Test – 12-секционная система, содержащая специальные питательные среды, которые позволяют идентифицировать Enterobacteriaceae и другие грам-отрицательные, оксидаза-отрицательные бактерии.

Система позволяет одновременно инокулировать все питательные среды, присутствующие в секциях, и выполнять 15 биохимических реакций.

Микроорганизм идентифицируется оценкой изменения цвета различных питательных сред после 18-24 часовой инкубации при $t^0 = 36 \pm 1^0$ С и получением числового кода, при интерпретации биохимических реакций.

Состав упаковки

Каждая упаковка содержит 10 или 25 Enteropluri-Test, лист инструкции и 1 схему результатов биохимических реакций.

Материалы необходимые, но не включенные в упаковку

Реагент Ковача	код 80270
Книга кодов Enteropluri-Test	код 71709
Оксидазные тест-полоски/тампоны/диски	код 88029/88003/88004
Фогес-Проскауэр-тест	код 80281

Различный материал для микробиологической лаборатории

Конфигурация

Конфигурация системы показана в Таблице 1

Сектор	Биохимические реакции
Глюкоза/газ	Ферментация глюкозы и продукция газа в анаэробных условиях
Лизин	Декарбоксиляция лизина в анаэробных условиях
Орнитин	Декарбоксиляция орнитина в анаэробных условиях
H ₂ S/индол	Продукция H ₂ S и индольный тест
Адонит	Ферментация адонита
Лактоза	Ферментация лактозы
Арабиноза	Ферментация арабинозы
Сорбит	Ферментация сорбита
Фогес-Проскауэр (ФП)	Продукция ацетоина (Фогес-Проскауэр)
Дульцит/ФД	Ферментация дульцита и деаминирование фенилаланина
Мочевина	Гидролиз мочевины
Цитрат	Утилизация цитрата

Принцип метода

Enteropluri Test позволяет идентифицировать Enterobacteriaceae и другие грам-отрицательные, оксидаза-отрицательные бактерии, выделенные из образцов клинического материала и внешней среды.

Идентификация основана на биохимических тестах, выполненных с помощью питательных сред, содержащих специфические субстраты. Комбинация положительных и

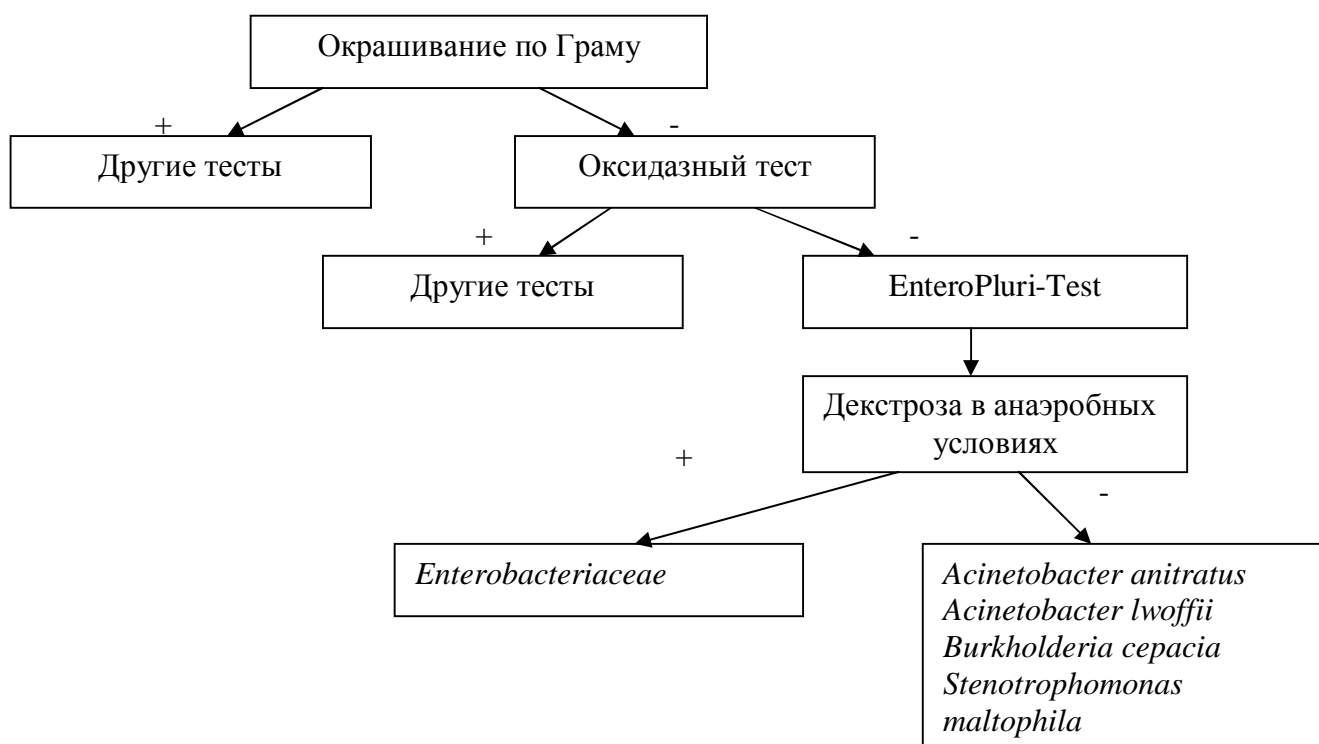
отрицательных реакций позволяет составить числовой код, который дает возможность идентифицировать бактерии, используя Книгу кодов.

Сбор образца

Enteropluri Test используется для идентификации грам-отрицательных, оксидаза-отрицательных бактерий, выделенных на селективной питательной среде для роста Enterobacteriaceae, такой как: MacConkey Agar (MCA), Eosin Methylene Blue Agar (EMBA), Salmonella и Shigella Agar (SSA), Hektoen Enteric Agar (HEEA) или на неселективной питательной среде.

Ход исследования

Микроорганизм, который подлежит идентификации, должен быть свежесодержанным (18-24 часа): бактерии из колоний старше, чем 48 часов могут давать ненадежные результаты. Перед инокуляцией микроорганизм, который должен быть идентифицирован, обязательно окрашивается по Граму и проверяется оксидазным тестом. Только грам-отрицательные, оксидаза-отрицательные бактерии должны быть инокулированы на Enteropluri Test. Для правильного выполнения обоих тестов, пожалуйста, проконсультируйтесь в соответствующих бактериологических руководствах.



- Выньте Enteropluri-Test – систему из упаковки и отметьте идентификационный номер бактериального штамма, подлежащего идентификации, дату тестирования и другую полезную информацию
- Удалите обе крышки с системы. Используя кончик инокуляционной иглы, помещенной под голубой крышечкой, без фламбирования, снимите хорошо изолированную колонию с селективной или неселективной питательной среды без пенетрации агара.
- Инокулируйте Enteropluri-Test, поворачивая и проводя иглу через сектора системы
- Выньте иглу поворачивающим движением до метки отлома, сломайте инокулирующую иглу, загнув ее у соответствующей метки. Часть иглы,

оставшаяся внутри системы, сохраняет анаэробные условия, необходимые для реакций в секциях **глюкоза/газ, лизин и орнитин**.

- Используйте отломанную часть иглы, оставшуюся в руках, для прокола пластиковой пленки в соответствующих углублениях секторов: **адонит, лактоза, арабиноза, сорбит, ФП, дульцит/ФД, мочевины, цитрат** для поддержания аэробного роста
- Снова завинтите обе крышки и инкубируйте EnteroPluri-Test при $36\pm 1^{\circ}\text{C}$ 18-24 часа, поместив его горизонтальной поверхностью или в вертикальном положении в тест-пробирочный держатель с сектором глюкоза/газ направленным вверх.

Интерпретация результатов

В конце инкубации:

- наблюдайте за изменением цвета питательных сред в различных секторах и интерпретируйте результаты, используя таблицу №2, в случае, если EnteroPluri-Test не инокулирован, храните его при комнатной температуре.

Примечание

Если отсутствует изменение цвета в секторе глюкоза/газ, в то время, как в других секторах имеются изменения цвета, тестируемый микроорганизм не принадлежит к семейству Enterobacteriaceae. Книга кодов также включает многие коды микроорганизмов, которые не ферментируют глюкозу анаэробно, но иногда могут быть необходимы некоторые дополнительные биохимические реакции для правильной идентификации таких неферментирующих микроорганизмов.

- зафиксируйте полученные результаты на вложенном бланке, за исключением индольного теста (сектор H_2S /индол) и Фогес-Проскауэр теста (ФП). Затем выполните тесты на индол и Фогес-Проскауэр.

Индольный тест

Положите EnteroPluri-Test его горизонтальной поверхностью вверх и проколите пластиковую ленту, инъекцируйте шприцем 3-4 капли реагента Ковача в сектор H_2S /индол.

Реакция положительная, если появляется розово-красное окрашивание в течение 10-15 секунд после добавления реагента.

Тест Фогес-Проскауэр

Положите EnteroPluri-Test его горизонтальной поверхностью вверх, проколите пластиковую пленку, инъекцируйте шприцем 3 капли альфа-нафтола (реагент 1) и 2 капли гидроксида калия (реагент 2). Реакция положительная, если развивается красное окрашивание в течение 20 минут

- Сформируйте 5-значный цифровой код, следуя инструкции, данной в разделе «Формирование цифрового кода». Идентифицируйте бактерии, используя книгу кодов.

Сектор	Биохимические реакции	Цвет лунки	
		Положительная реакция	Отрицательная реакция
Глюкоза/газ	Ферментация глюкозы	Желтый	Красный

	Продукция газа	Отделившийся воск	Прилипший воск
Лизин	Декарбоксиляция лизина	Фиолетовый	Желтый
Орнитин	Декарбоксиляция орнитина	Фиолетовый	Желтый
H ₂ S/индол	Продукция сероводорода	Черно-коричневый	Бежевый
	Индольный тест	Розово-красный	Бесцветный
Адонит	Ферментация адонита	Желтый	Красный
Лактоза	Ферментация лактозы	Желтый	Красный
Арабиноза	Ферментация арабинозы	Желтый	Красный
Сорбит	Ферментация сорбита	Желтый	Красный
Фогес-Проскауэр (ФП)	Продукция ацетона	Красный	Бесцветный
Дульцит/ФД	Ферментация дульцита	Желтый	Зеленый
	Деаминирование фенилаланина	Темно-коричневый	Зеленый
Мочевина	Гидролиз мочевины	Пурпурный	Бежевый
Цитрат	Утилизация цитрата	синий	зеленый

Формирование цифрового кода

- 15 биохимических тестов разделены на 5 групп, каждая из которых содержит по 3 теста и каждый из них индицируется позитивными значениями 4,2,1
 - значение 4: первый тест положителен в каждой группе (глюкоза, орнитин, адонит, сорбит и ФД)
 - значение 2: второй тест положителен в каждой группе (газ, H₂S, лактоза, ФП, мочевина)
 - значение 1: третий тест положителен в каждой группе (лизин, индол, арабиноза, дульцит, цитрат)
 - значение 0: каждый тест негативен
- Сложите числа положительных реакций в каждой группе, они сформируют 5-значный цифровой код, который при использовании книги кодов позволяет идентифицировать исследуемый микроорганизм, как указано в образце.

тест	Группа 1			Группа 2			Группа 3			Группа 4			Группа 5		
	глюкоза	газ	Лизин	Орнитин	H ₂ S	Индол	Адонит	Лактоза	Арабиноза	Сорбит	ФП	Дульцит	ФД	Мочевина	цитрат
Код позитивности	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1
Результаты	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-
Код	4+2+0=6			4+2+0=6			0+0+0=0			0+2+0=2			4+2+0=6		
КОД: 66026	Идентификация: <i>Proteus mirabilis</i>														

Контроль качества, проводимый пользователем

Инокулируйте EnteroPluri-Test, используя референтные штаммы, указанные в таблице 3. Для инокуляции, инкубации и чтения, пожалуйста, следуйте инструкции, указанной в разделе «Ход исследования».

Таблица №3

Микроорганизмы	глюкоза	газ	Лизин	Орнитин	H ₂ S	Индол	Адонит	Лактоза	Арабиноза	Сорбит	ФП	Дульцит	ФД	Мочевина	цитрат	Подходящие биокоды
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	75340
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	66007
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13833	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	±	+	-	±	+	70773-70771 70753-70751
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	+	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	52140
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	-	-	+	+	-	-	-	-	±	-	-	-	-	±	±	*

**Pseudomonas aeruginosa* – оксидаза-положительна, поэтому она не включена в книгу кодов EnteroPluri-Test.

ТАБЛИЦА БИОХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

Процентное содержание штаммов, дающих положительную реакцию с инкубацией в течение 18-24 часов атуре 36°C ± 1°C

Глюкоза	Газ	Лизин	Орнитин	H ₂ S	Индол	Адонит	Лактоза	Арабиноза	Сорбит	Фитес- Проскауэ	Дульцит	Фенилаланин	Мочевина	Цитрат
---------	-----	-------	---------	------------------	-------	--------	---------	-----------	--------	--------------------	---------	-------------	----------	--------

Escherichieae	<i>Escherichia</i>	+	+J	d	d	-K	+	-	+J	+	+/-	-	d	-	-	-		
		100.0	92.0	80.6	57.8	4.0	96.3	5.2	91.6	91.3	80.3	0.0	49.3	0.1	0.1	0.2		
	<i>Shigella</i>	+	-A	-	-/+B	-	-/+	-	-B	+/-	-/+	-	d	-	-	-		
		100.0	2.1	0.0	20.0	0.0	37.8	0.0	0.3	67.8	29.1	0.0	5.4	0.0	0.0	0.0		
Edwardsiellae	<i>Edwardsiella</i>	+	+	+	+	+	+	0.0	0.0	+/-	-	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
		100.0	99.4	100.0	99.0	99.6	99.0	0.0	0.0	10.7	0.2	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
Salmonelleae	<i>Salmonella</i>	+	+C	+H	+I	+E	-	-	-	+/-	+	-	dD	-	-	dF		
			100.0	91.9	94.6	92.7	91.6	1.1	0.0	0.8	89.2	94.1	0.0	86.5	0.0	0.0	80.1	
		<i>Arizona</i>	+	+	+	+	-	-	D	+	+	-	-	-	-	-	+	
			100.0	99.7	99.4	100.0	98.7	2.0	0.0	69.8	99.1	97.1	0.0	0.0	0.0	0.0	96.8	
	<i>Citrobacter</i>	<i>freundii</i>	+	+	-	d	-/+	-	-	d	+	+	-	d	-	-	dw	
			100.0	91.4	0.0	17.2	81.6	6.7	0.0	39.3	100.0	98.2	0.0	59.8	0.0	89.4	90.4	
<i>amalonaticus</i>		+	+	0.0	+	0.0	+	0.0	+/-	+	+	-	-/+	-	-	+		
		100.0	97.0	0.0	97.0	0.0	99.0	0.0	70.0	99.0	97.0	0.0	11.0	0.0	81.0	94.0		
	<i>diversus</i>	+	+	0.0	+	0.0	+	+	d	+	+	-	+/-	-	dw	+		
		100.0	97.3	0.0	99.8	0.0	100.0	100.0	40.3	98.0	98.2	0.0	52.2	0.0	85.8	99.7		
Proteeae	<i>Proteus</i>	<i>vulgaris</i>	+	+/-G	-	-	+	+	-	-	-	-	0.0	0.0	+	+	d	
			100.0	86.0	0.0	0.0	95.0	91.4	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	100.0	95.0	10.5	
		<i>mirabilis</i>	+	+G	-	+	+	-	-	-	-	-	-/+	-	+	+/-	+/-	
			100.0	96.0	0.0	99.0	94.5	3.2	0.0	2.0	0.0	0.0	16.0	0.0	99.6	89.3	58.7	
	<i>Morganella</i>	<i>morganii</i>	+	+/-G	-	-	-	+	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	+	+	0.0	
			100.0	86.0	0.0	97.0	0.0	99.5	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	95.0	97.1	0.0	
	<i>Providencia</i>	<i>alcalifaciens</i>	+	dG	-	-	+	+	-	+	+	-	-	0.0	+	-	+	
		100.0	85.2	0.0	1.2	0.0	99.4	94.3	0.3	0.7	0.6	0.0	0.0	97.4	0.0	97.9		
<i>stuartii</i>		+	-	-	-	-	+	-/+	-	-	-	-	-	+	-/+	+		
		100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	98.6	12.4	3.6	4.0	3.4	0.0	0.0	94.5	20.0	93.7		
	<i>rettgeri</i>	+	-/+G	-	-	+	+	d	d	-	-	-	-	+	+	+		
		100.0	12.2	0.0	0.0	0.0	95.9	99.0	10.0	0.0	1.0	0.0	0.0	98.0	100.0	96.0		
Klebsielleae	<i>Enterobacter</i>	<i>cloacae</i>	+	+	-	+	-	-/+	+/-	+	+	+	d	-	-/+	+		
			100.0	99.3	0.0	93.7	0.0	0.0	28.0	94.0	99.4	100.0	100.0	15.2	0.0	74.6	98.9	
		<i>sakazakii</i>	+	+	-	+	-	-/+	-	+	+	-	+	-	-	-	-	+
			100.0	97.0	0.0	97.0	0.0	16.0	0.0	100.0	100.0	0.0	97.0	6.0	0.0	0.0	94.0	
		<i>gergoviae</i>	+	+	+/-	0.0	-	-	-/+	+	0.0	+	+	0.0	+	+	+	
			100.0	93.0	64.0	100.0	0.0	0.0	42.0	100.0	0.0	100.0	0.0	0.0	100.0	0.0	96.0	
		<i>aerogenes</i>	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	-	-	+	
			100.0	95.9	97.5	95.9	0.0	0.8	97.5	92.5	100.0	98.3	100.0	4.1	0.0	0.0	92.6	
	<i>Pantoea</i>	<i>agglomerans</i>	+	-/+	0.0	0.0	-/+	-	d	+	d	+/-	d	-/+	d	-/+	d	
			100.0	24.1	0.0	0.0	19.7	7.5	52.9	97.5	26.3	64.8	12.9	27.6	34.1	84.2		
	<i>Hafnia</i>	<i>alvei</i>	+	+	+	+	0.0	0.0	d	+	-	+/-	-	-	-	d	+	
			100.0	98.9	99.6	98.6	0.0	0.0	2.8	99.3	0.0	65.0	2.4	0.0	3.0	5.6		
<i>Serratia</i>	<i>marcescens</i>	+	+/-G	+	+	-	-w	-/+	-	+	+	-	-	-	dw	+		
		100.0	52.6	99.6	99.6	0.0	0.1	56.0	1.3	0.0	99.1	98.7	0.0	0.0	39.7	97.6		
	<i>liquefaciens</i>	+	d	+/-	+	-	-w	-	d	+	+	-/+	-	-	dw	+		
		100.0	72.5	64.2	100.0	0.0	1.8	8.3	15.6	97.3	97.3	49.5	0.0	0.9	3.7	93.6		
	<i>rubidaea</i>	+	dG	+/-	+	-	-w	+/-	+	+	+	+	+	+	dw	+/-		
		100.0	35.0	61.0	0.0	0.0	2.0	88.0	100.0	100.0	8.0	92.0	0.0	0.0	4.0	88.0		
<i>Klebsiella</i>	<i>pneumoniae</i>	+	+	+	0.0	0.0	0.0	+/-	+	+	+	+	-/+	-	+	+		
		100.0	96.0	97.2	0.0	0.0	0.0	89.0	98.7	99.9	99.4	93.7	33.0	0.0	95.4	96.8		
	<i>oxytoca</i>	+	+	+	-	-	+	+/-	+	+	+	+	-/+	-	+	+		
		100.0	96.0	97.2	0.0	0.0	100.0	89.0	98.7	100.0	98.0	93.7	33.0	0.0	95.4	96.8		
	<i>ozaenae</i>	+	d	-/+	-	-	-	+	d	+	+/-	-	-	-	d	d		
		100.0	55.0	35.8	1.0	0.0	0.0	91.8	26.2	100.0	78.0	0.0	0.0	0.0	14.8	28.1		
	<i>rhinoscleromatis</i>	+	-	-	-	-	-	+	d	+	+	-	-	-	-	-		
		100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	98.0	6.0	100.0	98.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0		
Yersineae	<i>Yersinia</i>	<i>enterocolitica</i>	+	-	+	-	-/+	-	-	+	+	-	-	-	+	-		
			100.0	0.0	0.0	90.7	0.0	26.7	0.0	0.0	98.7	98.7	0.1	0.0	0.0	90.7	0.0	
	<i>pseudotuberculosis</i>	+	-	-	-	-	-	-	+/-	-	-	-	-	+	-			
		100.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	55.0	0.0	0.0	0.0	100.0	0.0			

+	Положительный	<p>D биосеротипы <i>S. Typhi</i>, <i>S. cholerae-suis</i>, <i>S. enteritidis paratyphi A</i> и <i>pullorum</i>, и некоторые другие медленно ферментируют дульцит</p> <p>E <i>S. enteritidis</i> биосеротипы <i>paratyphi A</i> и некоторые редкие биотипы могут быть H2S-отрицательными</p> <p>F биосеротипы <i>S. Typhi</i>, <i>S. enteritidis paratyphi A</i> и некоторые редкие биотипы являются цитрат-отрицательными</p> <p>G <i>Serratia</i>, <i>Proteus</i> и <i>Providencia alcalifaciens</i> выделяют небольшое количество газа. Продукция газа ими может быть неочевидным.</p> <p>H <i>S. enteritidis</i> биосеротип <i>paratyphi A</i> являются лизин-отрицательными</p> <p>I <i>S. typhi</i> и <i>S. gallinarum</i> являются орнитин-отрицательными</p> <p>J Группа <i>Alcalescens-Dispar</i> (A-D) включена как биотип <i>E. Coli</i>. Представители группы A-D являются в основном неподвижными, лактозо-отрицательными и не формируют газ.</p> <p>K Редкий штамм может продуцировать сероводород</p>
-	Отрицательный	
+/-	Больше положительный	
-/+	Больше отрицательный	
d	Разные биохимические типы	
w	Слабая реакция	
A	Определенные биотипы газа <i>S. Flexneri</i>	
B	штамм <i>S. Sonnei</i> обычно ферментируют лактозу очень медленно	
C	<i>S. Typhi</i> и <i>S. Gallinarum</i> не продуцируют газ	

Факторы, которые могут повлиять на результаты

- использование смешанных культур
- применение метода к бактериям, не принадлежащим к семейству Enterobacteriaceae или к грам-отрицательным, оксидаза-отрицательным бактериям
- использование просроченных систем
- ход исследования отличается от предложенного

Меры предосторожности

Продукт EnteroPluri-Test не классифицируется как опасный согласно действующим нормам и не содержит вредных субстанций в концентрации $\geq 1\%$. Поэтому он не требует паспорта безопасности. EnteroPluri-Test – одноразовый продукт, который следует использовать только для *in vitro* диагностики, он предназначен для использования в профессиональных условиях лаборатории специально обученным персоналом, применяющим утвержденные правила асептики и методы безопасности при обращении с патогенными агентами.

Хранение

Храните при 2-8⁰ С вдали от источников света. В таких условиях продукт будет оставаться годным до окончания срока годности, указанного на этикетке. Не используйте по истечении этой даты. Утилизируйте, если имеются признаки повреждения.

Утилизация использованного материала

После использования EnteroPluri Test необходимо деконтаминировать и утилизировать в соответствии с техническими правилами, используемыми в лаборатории для деконтаминации и утилизации потенциально инфицированного материала.











Литература

- Murray, Baron, Pfaller, Tenorev and Yolken: Manual of clinical Microbiology (1999) , 7th Edition.
- Edwin, H.Lenette.: Manual of clinical Microbiology (1985), 4th Edition (ASM).
- Dito W. R., Bulmash J., Campbell J., Roberts E. : A numerical Coding and Identification System for Enterobacteriaceae. Chicago: American Society of Clinical Pathologists, Commission on Continuing Education, Illinois, 1972.
- Ewing, W. H.: Differentiation of Enterobacteriaceae by Biochemical Reactions. Washington , DC: U.S. dept. of Health , Education and Welfare, Public Health Service, National center for Disease Control, 1973.

Представление

Продукт	Код	Упаковка
EnteroPluri-Test	78618	10 тестов
	78619	25 тестов

Обозначения

<u>СИМВОЛ</u>	<u>ЗНАЧЕНИЕ</u>	<u>СИМВОЛ</u>	<u>ЗНАЧЕНИЕ</u>
	Изделие медицинского назначения для <i>in vitro</i> диагностики		Не использовать повторно
	Производитель		Набор рассчитан на ,, ,, тестов
	Каталожный номер		Хрупкий, не кантовать
	Использовать до		Внимание: прочтите инструкцию
	Температура хранения		Номер партии