

ТЕСТ-СИСТЕМА ДЛЯ ВИДОВОЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ БАЦИЛЛ И РОДСТВЕННЫХ ВИДОВ

Microgen BACILLUS-ID (MID-66)



Двойные пластиковые стрипы с лунками, которые содержат лиофилизированные биохимические субстраты и индикаторы. Интерпретирует 23 биохимических реакции и содержит контроль сбраживания углеводов. Каждый стрип (тест) поставляется в индивидуальной упаковке из фольги.

Позволяет определять точный вид микроорганизма, используя 1 колонию чистой культуры.

Состав набора:

1. Тестовые стрипы (двойные) с лунками- 20 шт.
2. Среда жидкая для суспензирования культуры- 20 флаконов
3. Рамка-держатель для стрипов
4. Бланки для результатов- 1 блокнот с отрывными бланками
5. Инструкция по использованию с цветовой таблицей реакций

Дополнительные реагенты и материалы, не включенные в набор:

1. Диск с программным обеспечением
2. Минеральное масло
3. Реагенты для реакции Фогеса-Проскауэра VP (MID-61c и MID-61d)
4. Реагенты для Нитрат-теста (MID-61a и MID-61b)
5. Реагент Ковача на индол (MID-61f)

Определяемые виды:

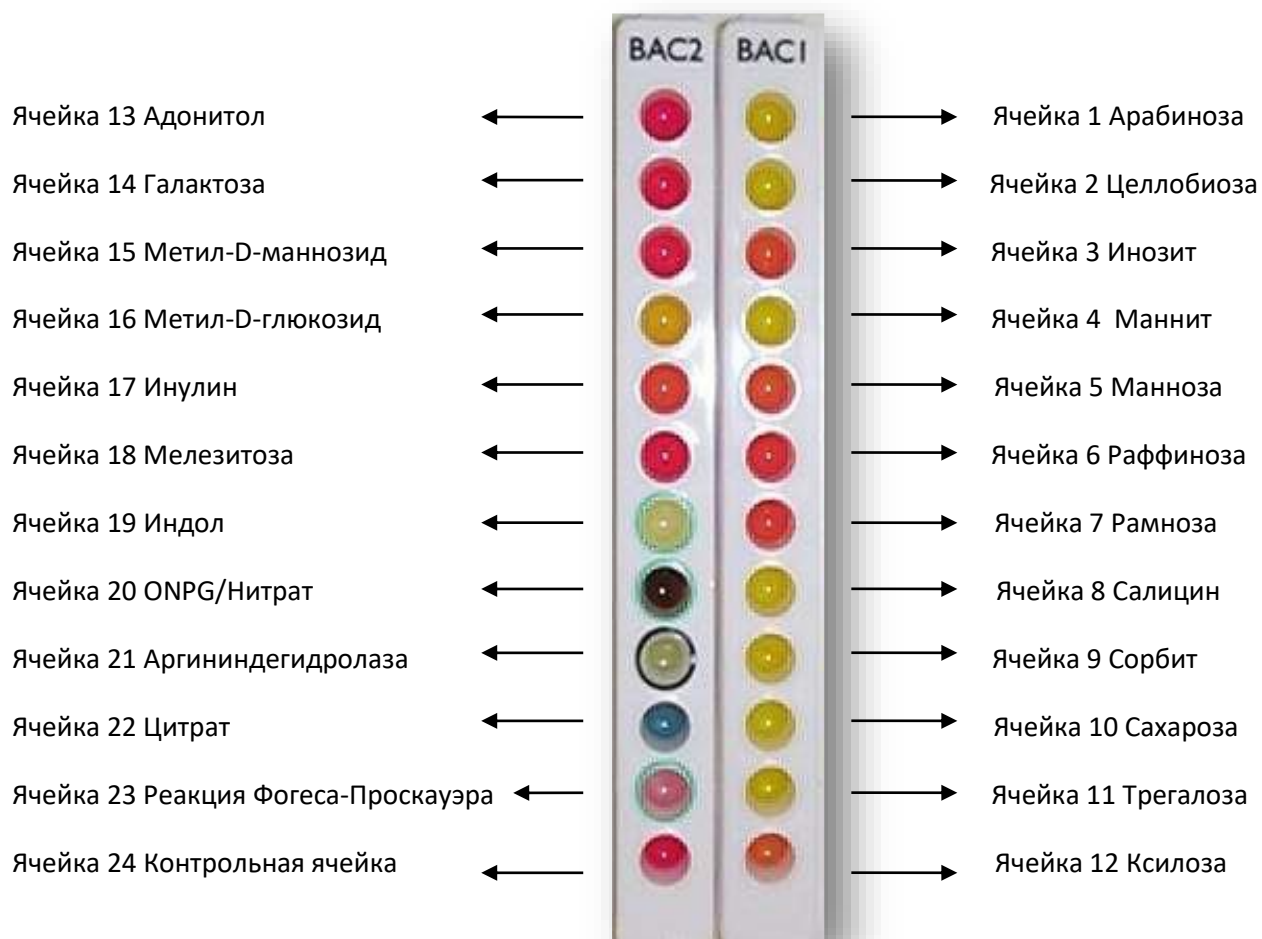
B. cereus group*	B. globisporus	Brevibacillus species
B. firmus	B. sphaericus	Br. brevis
B.adius	B. pumilus	Br. laterosporus
B. laevolacticus	B. licheniformis	
B. coagulans	B. megaterium	
B. lentus	Virgibacillus species	
B. amyloliquefaciens	V. pantothenicus	
B. subtilis	Paenibacillus species	
B. circulans	P. alvei	
B. insolitus	P. polymyxa	
B. thiaminolyticus	P. macerans	
B. freudenreichii		

* B. cereus group включает B.cereus, B.thuringiensis, B.mycoides, B.weihenstephanensis.

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Система состоит из 2 тестовых стрипов (BAC1 и BAC2), каждый из которых содержит по 12 субстратов для интерпретации либо реакции сбраживания углеводов, либо биохимических тестов. Последняя ячейка второго стрипа является контролем сбраживания углеводов и используется для сравнения. Результаты считываются по изменению цвета в лунках и анализируются с помощью программного обеспечения.

Субстраты



Система интерпретирует 24 биохимические реакции:

Лунка	Субстрат	Реакция	Положительная	Отрицательная
1	Арабиноза	Сбраживание специфических углеводов с образованием кислых конечных продуктов приводит к изменению цвета индикатора фенолового красного с красного на желтый	Желтый	Красный
2	Целлобиоза			
3	Инозит			
4	Маннит			
5	Манноза			
6	Раффиноза			
7	Рамноза			
8	Салицин			
9	Сорбит			
10	Сахароза			
11	Трегалоза			
12	Ксилоза	Сбраживание специфических углеводов с образованием кислых конечных продуктов приводит к изменению цвета индикатора фенолового красного с красного на желтый	Желтый	Красный
13	Адонитол			
14	Галактоза			
15	Метил-D-маннозид			
16	Метил-D-глюкозид			
17	Инулин			
18	Мелезитоза			

19	Индол	Индол образуется из триптофана и при добавлении реагента Ковача образует комплекс розового/красного цвета	Розовый/красный	Бесцветный/желтый
20	ONPG (орто-нитрофенил-β-D-галактопиранозид)	Гидролиз ONPG β-галактозидазой дает в результате образование орто-нитрофенола, окрашенного в желтый цвет	Желтый	Бесцветный
20 + реагент	Нитрат	Нитрат восстанавливается до нитрита, который формирует темно-красный комплекс после добавления α-нафтиламина и сульфаниловой кислоты	Красный	Бесцветный/желтый
21	Аргининдегидролаза	Аргинин превращается в орнитин, аммиак и CO ₂ ферментом аргининдегидролазой. В результате увеличивается pH и индикатор бромтимоловый синий меняет цвет с зеленого на синий. Зеленый цвет через 48 ч. является отрицательным результатом.	Зелено-синий/синий	Желтый/желто-зеленый
22	Цитрат	Утилизация цитрата (единственного источника углерода) приводит к увеличению pH, в результате чего цвет индикатора бромтимолового синего меняется с желтовато-зеленого на синий	Синий	Желтый/светло-зеленый
23	Реакция Фогеса-Проскауэра	Образование ацетоина из глюкозы выявляется по образованию розового/красного комплекса после добавления альфа-нафтола и креатина в присутствии КОН	Розовый/красный	Соломенно-желтый
24	Контрольная ячейка	Контроль сбраживания углеводов	Красный	Красный

Процедура теста

1. После выделения на культурной среде, проведите окраску по Граму чистой культуры (грамположительные бациллы), тест на каталазу (каталаз-положительные), проверьте образование эндоспор. Оптимальный рост микроорганизмов должен наблюдаться при 25-45°C.

2. Отберите культуру стерильной петлей или тампоном и разведите прилагаемой Среде для суспендирования. Суспензия должна быть эквивалентна 2.0 по Мак-Фарланду.

Примечание: так как некоторые колонии могут оказаться очень сухими и трудно поддаваться суспендированию, возможно использование смоченного тампона. Рекомендуется инокулировать систему в течение 10 минут после приготовления суспензии.



3. Снимите адгезивную пленку с каждого стрипа с лунками, но не удаляйте ее полностью.

4. Добавьте пастеровской пипеткой 3-4 капли (около 100-125 мкл) бактериальной суспензии в каждую лунку стрипов.



5. Добавьте в ячейку 21 (Аргинин) минеральное масло 3-4 капли. Ячейка имеет черный контур для удобства.

6. Наклейте адгезивную пленку обратно на оба стрипа и убедитесь в наличии проколов над лунками Цитрат (Citrate) и ONPG на стрипе BAC2. Инкубируйте 18-24 ч. при 30°C.

7. Дополнительно для проверки можно поместить 1 каплю бактериальной суспензии на неселективную среду и инкубировать параллельно 18-24 ч. при 30°C.

8. Считайте по стрипам все результаты тестов на ферментацию углеводов (лунки 1-18) с ссылкой на контрольную ячейку (последнюю). Оранжевый или желтый цвет сравнимый с контрольной лункой может считаться положительным результатом. Результаты в лунках Аргинин, Цитрат и ONPG считываются согласно таблице цветных реакций. Запишите все результаты в форму.

9. Инкубируйте еще 18-24 ч. при 30°C.

Примечание: некоторые тесты на ферментацию углеводов могут оказаться положительными после 18-24 ч. инкубации и отрицательными после 36-48 ч. инкубации. При подсчете результатов необходимо учитывать все положительные результаты. Отрицательными результаты могут считаться только в случае отрицательной реакции как после 18-24 ч., так и после 36-48 ч. инкубации.

8. После 48 ч. инкубации добавьте следующие реагенты в лунки второго стрипа BAC2.

А) В ячейку 19 добавьте 2 капли реактива Ковача на индол (MID-61f). Результат считывается через 60 сек. Появление розового/красного цвета означает положительный результат.

Б) В ячейку 23 добавьте 1 каплю реагента Фогеса-Проскауэра I (MID-61c) и 1 каплю реагента Фогеса-Проскауэра II (MID-61d). Результат считывается через 15-30 минут. Появление цвета от светло-розового до темно-красного означает положительный результат.

В) В ячейку 20 добавьте 1 каплю Нитрат-реагента А (MID-61a) и 1 каплю Нитрат-реагента В (MID-61b). Результат считывается через 1 минуту. Образование красного цвета означает положительный результат.

9. Запишите все результаты в форму, используя цветовую таблицу реакций.

WELL/ NAPFCHEN IGODET	24	1 to 18	1 to 18	19	20	21	22	23	(20) + Reagents
Reaction	Carbohydrate Negative Control 24/48 hours	Carbohydrate Fermentation 24 hours	Carbohydrate Fermentation 48 hours (*)	Indole 48 hours	O.N.P.G 24/48 hours	Arginine 24/48 hours	Citrate 24/48 hours	VP 48 hours	Nitrate 48 hours
Negative (Well 24 (*))	 	 	  	 			 		 
Positive		  	 	 	 	 	 	 	 

10. Получите 8-значный код (сложив индексы положительных реакций в каждом из триплетов).

MICROGEN BACILLUS-ID 24 TEST
REPORT FORM

Lab. No. F4560
Specimen Type COOKED RICE
Date 12-10-04



	Bacillus Strip 1 (BAC 1)												Bacillus Strip 2 (BAC 2)												
Well Number	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	
Reaction	ARA	CEL	INO	MAN	MNS	RAF	RHA	SAL	SCR	SUC	TRE	XYL	ADO	GAL	MDM	MDG	INU	MLZ	IND	ONPG	ARG	DT	VP	NT	NEG
24 hours	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+
48 hours	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	
Reaction Index	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	4	2	1	
Sum of Positive Reactions	0	0	2	6	0	0	1	3																	

Profile No: 00260013 Final Identification: Bacillus cereus group

11. Введите полученный код в базу данных для определения вида микроорганизма.