

Федеральное бюджетное учреждение науки  
**САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
ЭПИДЕМИОЛОГИИ И МИКРОБИОЛОГИИ им. ПАСТЕРА**

Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека  
**(ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера)**  
197101, Россия, Санкт-Петербург, улица Мира, дом 14. Телефон (812) 233-20-92, факс (812) 644-63-10  
e-mail: [pasteur@pasteurorg.ru](mailto:pasteur@pasteurorg.ru); [www.pasteurorg.ru](http://www.pasteurorg.ru)  
ОКПО 01967164, ОГРН 001037828006314; ИНН/КПП 7813047047/781301001

Для научных  
исследований

**ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ  
НАБОРА РЕАГЕНТОВ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ  
ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ КЛЕБСИЕЛЛА 5-АСК  
ТУ 026–01967164–2015**

**1. НАЗНАЧЕНИЕ**

Питательная среда «Клебсиелла 5-АСК» предназначена для одноэтапного выделения и одновременной идентификации бактерий рода *Klebsiella* видов: *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. mobilis* в течение 18–24 ч.

При количественном посеве материала возможен количественный учёт бактерий рода *Klebsiella* в материале.

**2. ХАРАКТЕРИСТИКИ НАБОРА**

**2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ**

Метод основан на выявлении 5-аминосалицилатдекарбоксилазы – уникального фермента бактерий рода *Klebsiella*. Этот фермент расщепляет 5-аминосалициловую кислоту (5-АСК) с образованием пара-аминофенола, который под действием кислорода воздуха образует полимер черно-коричневого цвета. В результате этой хромогенной реакции вокруг колоний клебсиелл образуется широкая зона черно-коричневой окраски среды. Ввиду уникальности этого признака идентификация условно патогенных для человека клебсиелл (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. mobilis*) проводится одновременно с их выделением на данной среде первичного посева материала. Непатогенные для человека виды клебсиелл (*K. terrigena*, *K. planticola*) не дают хромогенную реакцию. Среду можно также использовать для идентификации чистых культур бактерий по хромогенной реакции с 5-АСК.

**2.2. СОСТАВ НАБОРА**

Набор рассчитан на приготовление 20 чашек Петри со средой.

Наименование реагента	Внешний вид	Количество в наборе
Сухой питательный агар из гидролизата кильки	Порошок светло-желтого цвета, гигроскопичен.	1 уп. – 14 г
5-аминосалициловая кислота	Порошок от белого до светло-серого цвета	1 уп. – 2 г
L-арабиноза	Порошок белого цвета	1 уп. – 4 г
1,6% спиртовой раствор бромтимолового синего	Жидкость жёлто-коричневого цвета	1 пр. - 1,6 мл
Натрия гидроксид, 1N	Жидкость прозрачная бесцветная	1 фл. – 20 мл

**3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ**

1. Чувствительность (ростовая): 2–10 КОЕ бактерий *K. pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. mobilis*; 105 КОЕ бактерий *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* и subsp. *rhinoscleromatis*.

2. Специфичность: 100% – отсутствие хромогенной реакции у клинических изолятов прочих родов бактерий.

3. Скорость роста бактерий рода *Klebsiella* – 20–24 ч.

4. Диагностическая значимость: выделение и сопряжённая идентификация бактерий рода *Klebsiella* (видов *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. mobilis*) в 92.2±2.7% проб. Идентификация чистых культур *K. pneumoniae* subsp. *ozaenae* и subsp. *rhinoscleromatis* – 100% штаммов.

#### **4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Набор предназначен только для *in vitro* диагностики.

При работе с реагентами набора не допускать их попадания на слизистые оболочки.

При работе с набором следует соблюдать СП 1.3.2322-08 и СанПиН 2.1.7.2790-10.

#### **5. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ**

В качестве исследуемого материала используют различные биологические жидкости (отделяемое из ран, моча, фекалии, разведения фекалий при исследовании на дисбактериоз, смывы с объектов санитарного контроля и др.).

#### **6. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА**

##### **6.1. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ**

Навеску сухого питательного агара из рыбного гидролизата растворяют по прописи на пакете (14 г на 400 мл дистиллированной воды), фильтруют через марлевый фильтр и стерилизуют в паровом стерилизаторе при температуре 120 °С в течение 30 мин. В стерильную колбу вносят 2 г 5-аминосалициловой кислоты, 4 г L-арабинозы, 400 мл горячего расплавленного питательного агара, 1.6 мл спиртового раствора бромтимолового синего. Перемешивают. Добавляют около 12 мл 1 N раствора натрия гидроксида до установления pH=7.0 (до зеленой окраски среды), разливают среду в стерильные чашки Петри по 20 мл. Среда зелёного цвета, прозрачная.

Чашки со средой хранить при температуре от 4 до 8 °С не более 5 суток.

##### **6.2. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ**

Исследуемый материал засевают микробиологической петлёй или ватным тампоном на поверхность среды (возможен посев на 1/4 часть чашки Петри), инкубируют при 35–37 °С в течение 18–24 ч. При необходимости можно осуществлять количественный посев материала и количественный учёт колоний.

#### **7. УЧЕТ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ**

По наличию зон темно-коричневой окраски среды вокруг выросших колоний идентифицируют бактерии рода *Klebsiella* условно патогенных для человека (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. mobilis*).

#### **8. УТИЛИЗАЦИЯ**

Утилизация отходов после использования набора реагентов осуществляется в соответствии с СанПиН 2.1.7.2790–10 («Санитарно-эпидемиологические требования к обращению с медицинскими отходами»).

#### **9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ НАБОРА**

Хранение и транспортирование: в упаковке предприятия-изготовителя при температуре 2–8 °С, допускается при температуре до 25 °С не более 2 недель.

Срок годности набора – 12 мес.

Срок хранения готовой среды в чашках при температуре от 4 до 8 °С – 5 суток.

Для получения надежных результатов необходимо строгое соблюдение инструкции по применению набора.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться в ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера, 197101, Россия, Санкт-Петербург, улица Мира, дом 14.

Телефон (812) 233-20-92, факс (812) 232-92-17.

e-mail: [pasteur@pasteurorg.ru](mailto:pasteur@pasteurorg.ru); [www.pasteurorg.ru](http://www.pasteurorg.ru).