

Утверждена

«Утверждаю»

Приказом Росздравнадзора
От _____ 2008г №

Ген.директор
ООО «Биомедиа»

Ильин Р.В.
«18» января 2008 г

ИНСТРУКЦИЯ По применению набора реагентов Готовая питательная среда

Колумбийский агар с НДК и бараньей кровью

НАЗНАЧЕНИЕ

Питательная среда «Колумбийский агар с НДК(налидиксовой кислотой) и 5 % бараньей крови» предназначена для селективного выделения прихотливых грамположительных микроорганизмов и определения типа гемолиза.

ХАРАКТЕРИСТИКА НАБОРА

ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Потребность бактерии в органических веществах различна и обеспечивается за счет бактериальных факторов роста (аминокислот, необходимых для построения белков, пуринов и пиримидинов, требующихся для образования нуклеиновых кислот, витаминов, входящих в состав некоторых ферментов).

При росте бактерий на плотных питательных средах образуются колонии - скопления большого числа клеток в виде уплощенного или выпуклого образования с ровными или неровными краями, имеющие плотную или вязкую консистенцию, различный цвет и т.д.

Основу среды составляет смесь пептонов, разработанная специально для прихотливых микроорганизмов (стрептококки, *Listeria* ...). Среда содержит баранью кровь, что позволяет определить тип гемолиза – один из основных ориентировочных тестов при идентификации бактерий.

Среда содержит налидиксовую кислоту и колимицин, которые ингибируют рост большинства грамотрицательных бактерий и представителей рода *Bacillus*

СОСТАВ НАБОРА

Готовая к использованию среда

Реф. Ф0802 6х200 мл, флаконы

Реф. Ч0802 2х10, чашки Петри (90 мм)

СОСТАВ СРЕДЫ

Расчетный состав

Среду можно модифицировать в соответствии с целями исследования:

Пептон и казеин (бычий или свиной)	10 г
Гидролизированные животные белки (бычьи или свиные)	10 г
Пептон, сердце (бычье или свиное)	3 г
Кукурузный крахмал.....	1 г
Натрия хлорид	5 г
Агар.....	13.5 г
Кровь (баранья).....	50 мл
Налидиксовая кислота.....	0.015 г

Биомедиа ®

Санкт-Петербург

1

Копимицин.....0.010 г
Дистиллированная вода 1 л
рН 7.3

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 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.

НЕОБХОДИМЫЕ РЕАКТИВЫ И МАТЕРИАЛЫ, НЕ ВКЛЮЧЕННЫЕ В НАБОР

- Генераторы атмосферы + контейнер для инкубации (или анаэрозат).
- Термостат.
- Водяная баня.

АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

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

ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

При необходимости подготовки чашек со средой:

1. Ослабьте крышку флакона.
2. Расплавьте агар на водяной бане, оснащенной системой безопасности (около 45 минут).
3. Плотно закройте крышку и перемешайте.
4. Оставьте флаконы при комнатной температуре минимум на 15 секунд, затем перенесите в термостатируемую водяную баню, установленную на 45-50°C. Оставьте на бане при этой температуре вплоть до использования.
5. Перемешайте и разлейте по чашкам (18-20 мл на чашку).

Посев и инкубация:

1. При разливе среды из флаконов, выдержите чашки до достижения комнатной температуры.
2. Засейте чашки сразу после получения образцов.
3. Инкубируйте в соответствующей атмосфере, при необходимости используйте газогенераторы (анаэробстат).
4. Инкубируйте в перевернутом положении (вверх дном) при 37°C. Время инкубации зависит от типа образца и целей исследования. Как правило, учет результата производится через 24–48 часов. При необходимости инкубацию следует продлить.

РЕГИСТРАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

- По окончании инкубации оцените бактериальный рост.
- Для идентификации микроорганизма пользуйтесь биохимическими и/или иммунологическими методами.
- Определите тип гемолиза (при его наличии):
 - α-гемолиз: зеленоватый ореол вокруг колонии.
 - β-гемолиз: зона лизиса вокруг или под колонией.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Протокол:

Для контроля питательных свойств среды рекомендуется использовать следующие штаммы (в обогащенной CO₂ атмосфере):

- *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615
- *Streptococcus pneumoniae* ATCC 6305

Результаты:

Штамм	Результат, культивирование при 33-37°C
• <i>Streptococcus pyogenes</i> ATCC 19615	β-гемолиз Рост за 24 часа, α-гемолиз
• <i>Streptococcus pneumoniae</i> ATCC 6305	

Примечание:

Сотрудники лаборатории несут ответственность за проверку качества среды (частота, количество штаммов, температура культивирования и пр.) в соответствии с целями работы и установленными нормами и правилами.

ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

- Некоторые штаммы, имеющие специфические ростовые потребности (субстрат, температура, прочие условия культивирования), могут не образовать колоний на данной среде.
- Используйте данную среду в сочетании с подходящей неселективной средой (колумбийский агар с кровью, шоколадный агар, пр.).
- Некоторые грамотрицательные бактерии могут образовать колонии на данной среде.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В исследовании использовали 108 бактериальных штаммов (*Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, стрептококки группы D / энтерококки, *Streptococcus pneumoniae*, стафилококки, *Listeria*, грамотрицательные и грамположительные палочки, анаэробы). Культивирование осуществляли при 37°C.

Питательные качества среды:

Все грамположительные культуры, кроме представителей рода *Bacillus*, образовали за 24 часа.

Селективные свойства:

Рост 23 из 26 грамотрицательных штаммов ингибировался в течение 48 часов.
Рост 2 исследованных штаммов *Bacillus* ингибировался.

Гемолиз:

Через 24 часа инкубации был отмечен гемолиз:

- β -гемолиз для 14 штаммов *Streptococcus pyogenes* и 3 штаммов *Listeria monocytogenes*.

Примечание: β -гемолиз характерен не только для этих видов; некоторые виды стафилококков и *Streptococcus agalactiae* также вызывают β -гемолиз.

- α -гемолиз для 9 штаммов *Streptococcus pneumoniae* и 2 штаммов *Erysipelothrix rhusiopathiae*.

ХРАНЕНИЕ

- Флаконы с агаром следует хранить в оригинальной упаковке при 2-8°C до истечения срока годности.
- Чашки с агаром следует хранить в оригинальной упаковке при 2-8°C до истечения срока годности.

УТИЛИЗАЦИЯ ОТХОДОВ

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

ГАРАНТИЙНЫЕ ОБЯЗАТЕЛЬСТВА ПРОИЗВОДИТЕЛЯ

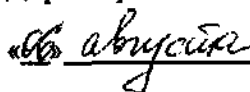
При соблюдении соответствующих правил и инструкций - в пределах срока годности, указанной на упаковке продукта.

По вопросам, касающимся качества набора, следует обращаться по адресу 196158 Санкт Петербург Московское ш 46 лит Б тел (812)633-09-02, факс (812)6330901.

Начальник отдела производства ООО «Биомедиа»  Тихонова Л.В.

«СОГЛАСОВАНО»

Директор ЗАО «Вымпел-Медцентр»  к.м.н С.П. Кондрашов

 2008 г.

