

Генеральный директор

ЗАО «НИЦФ»



Плинер Е.Г.

201 ____ г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению питательной среды для выделения и первичной идентификации облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium* сухой, (среды Вильсона-Блера).

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Питательная среда для выделения и первичной идентификации облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium* сухая, (среда Вильсона-Блера) предназначена для выделения и первичной идентификации облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium*.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ

2.1. Принцип метода.

Принцип метода – визуальное обнаружение бактерий, выросших на питательной среде при посеве исследуемых образцов и первичная идентификация по признаку сульфитредуцирования.

2.2. Среда Вильсона-Блера представляет собой мелкодисперсный аморфный порошок желтого цвета из расчета г/л:

ГМФ-основа	18,0 г
Натрия хлорид	5,0 г
Натрий сернистокислый	20,0 г
Железа сульфат семиводный	0,75 г
Глюкоза	17,0 г
Мальтоза	4,0 г
Агар микробиологический	от 10 до 12 г *.

* (в зависимости от прочности студня).

Выпускается по 100, 200, 250 и 500 г в банки из полиэтилена высокого давления со светозащитной добавкой, с самогерметизирующейся крышкой..

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

3.1. Специфическая активность (показатели чувствительности, скорости роста и стабильности основных биологических свойств микроорганизмов).

Среда должна обеспечивать во всех засеянных пробирках рост тест-штаммов *Clostridium perfringens* ATCC 13124, *Clostridium septicum* 59 и *Clostridium sporogenes* 17, сопровождаемый почернением столбика среды при посеве по 1,0 мл микробной взвеси из разведений 10^{-5} и 10^{-6} через 18-24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

Рост тест-штамма *Salmonella typhi* Н 901 3111 сопровождается почернением столбика среды при посеве 1,0 мл микробной взвеси из разведения 10^{-6} через 18-24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

3.2. Показатель дифференциации.

Рост тест-штаммов *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Shigella flexneri* 1a 8516 не сопровождается почернением столбика среды при посеве 1,0 мл микробной взвеси из разведения 10^{-4} через 24 ч инкубации при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Соблюдение «Правил устройства, техники безопасности производственной санитарии, противоэпидемического режима и личной гигиены при работе в лабораториях (отделениях, отделах) санитарно-эпидемиологических учреждений системы Министерства здравоохранения» (Москва, 1981 г.).

5. ОБОРУДОВАНИЕ И РЕАГЕНТЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$
- Автоклав
- Пробирки стеклянные
- Петля бактериологическая
- Вода дистиллированная
- Вата медицинская гигроскопическая

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты (клинический материал, пищевые продукты, пищевое сырье и объекты внешней среды) исследований в санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Подготовка питательной среды для использования.

Среду Вильсона-Блера в количестве, указанном на этикетке, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят 2 мин до полного расплавления агара. Фильтруют через ватно-марлевый фильтр, разливают в стерильные бутылки или пробирки и стерилизуют автоклавированием при температуре $110 ^\circ\text{C}$ в течение 20 мин. Готовая среда в пробирках прозрачная, коричневого цвета. В таком виде среду Вильсона-Блера можно использовать для контроля 7 сут при температуре хранения от 2 до $8 ^\circ\text{C}$.

7.2. Посев клинического материала проводят по 1 мл суспензии в теплую среду при $50-55 ^\circ\text{C}$ либо в среду комнатной температуры уколом в столбик.

Инкубацию проводят при температуре $(37 \pm 1) ^\circ\text{C}$ в течение 18-24 часов.

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Регистрацию результатов роста бактерий проводят визуально. При росте облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium*, а также бактерий рода *Salmonella* наблюдается почернение столбика питательной среды различной интенсивности. При росте аэробных бактерий, не способных восстанавливать сернистокислый натрий, наблюдается диффузный рост без почернения столбика среды. Вследствие ферментации некоторыми штаммами клостридий глюкозы возможен разрыв столбика агара образующимися газами.

Для дальнейшей идентификации облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium* из зоны почернения питательной среды делают мазки, окрашивают их по Граму и микроскопируют в иммерсионной системе. На присутствие бактерий рода *Clostridium* указывает наличие в мазке грамположительных палочек с закругленными концами, располагающихся одиночно, попарно, в виде цепочек, с возможным включением спор. На присутствие бактерий рода *Salmonella* указывает наличие в мазке грамотрицательных палочек с закругленными концами.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Питательную среду для выделения и первичной идентификации облигатно-анаэробных сульфитредуцирующих бактерий рода *Clostridium* сухую, (среду Вильсона-Блера) необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 25 °С.

Транспортирование должно проводиться при температуре от 2 до 25 °С всеми видами крытого транспорта.

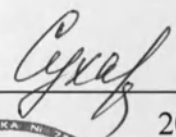
Срок годности – 2 года со дня изготовления. Питательная среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

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

Рекламации на качество питательной среды в течение срока годности следует направлять в адрес производителя: Закрытое акционерное общество "Научно-исследовательский центр фармакотерапии" Адрес: 196240, г. Санкт-Петербург, проезд Предпортовый 7-й, д. 2а, лит.А, телефон: (812) 320 71 73

Ответственный за производство:

Начальник производства
питательных сред


_____ М.Э. Сухаревич
«_____» _____ 201__ г.

«СОГЛАСОВАНО»

Главный врач СПб ГУЗ

«Городская поликлиника № 75


_____ Коновал А.И.
_____ 201__ г.