

Федеральное государственное учреждение
"Центр гигиены и эпидемиологии"
государственной службы по надзору
в сфере защиты прав потребителей и
технического регулирования
Федеральный научный центр
прикладной микробиологии и биотехнологии
119121, г. Москва, ул. Давыдовская, д. 19

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФГУН
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии
А. Долгов
2009 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению питательной среды для выявления кластридий
по сульфитредуцирующему признаку сухой
(Сульфитный агар)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Сульфитный агар предназначен для бактериологических исследований в санитарной и клинической микробиологии с целью выявления сульфитредуцирующих кластридий в пищевых продуктах, воде, почве; при микробиологической диагностике дисбактериоза кишечника, для научных исследований.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Сульфитный агар представляет собой мелкокристаллический, гигроскопичный, светочувствительный порошок бежевого цвета. Выпускается в 3-х модификациях.

Сульфитный агар расфасован в полиэтиленовые банки по 250 г.

2.1. Принцип действия

Совокупность компонентов, входящих в состав питательной среды, обеспечивает питательные потребности для роста кластридий и их идентификации по сульфитредуцирующему признаку: способности редуцировать сульфит до сульфида, который с ионами железа образует черный прешпитат.

2.2. Состав

Сульфитный агар представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат казеина 15,0
Дрожжевой экстракт 10,0

- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в санитарной и клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление сульфитного агара.

Мод. 1, 2.

Препарат в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2-3 мин, активно перемешивая (не допуская пригорания), разливают по 10 мл в пробирки и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин.

Готовая среда от желтого до желто-серого цвета. Возможна незначительная опалесценция. Допускается коричневый осадок на дне пробирки. Готовые питательные среды хранят не более 7 суток при температуре 2-8 °С.

Перед использованием среду необходимо регенерировать путем нагревания на кипящей водяной бане в течение 15 мин.

Мод. 3.

Препарат в количестве, указанном на этикетке для приготовления конкретной серии питательной среды, размешивают в 1 л дистиллированной воды, кипятят в течение 2-3 мин, активно перемешивая (не допуская пригорания), стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин и разливают в чашки Петри.

Готовые питательные среды хранят не более 2 суток при комнатной температуре в темном месте.

7.2. Взятие, посев и учет результатов осуществляют в соответствии с нормативными документами на выявление и определение количества сульфитредуцирующих кластридий в пищевых продуктах, почве, питьевой воде и при микробиологической диагностике дисбактериоза кишечника.

7.3. При использовании среды в модификациях 1 и 2 исследуемый материал засевают в середину столбика среды, аккуратно перемешивая, и инкубируют при температуре (37±1) °С. При использовании среды в модификации 3 исследуемый материал засевают на чашку Петри и инкубируют при температуре (37±1) °С в анаэробных условиях.

Железа цитрат 1,0
Натрия сульфит 0,5
Агар микробиологический
Мод. 1 1,5
Мод. 2 7,0±1,0
Мод. 3 17,5±2,5

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Сульфитный агар обеспечивает рост каждого из тест-штаммов:

Сульфитный агар	Тест-штаммы	Условия роста	Характеристика роста
Мод. 1, 2	<i>Clostridia perfringens</i>	В пробирках (37±1) °С 24 ч	Колонии черного цвета в столбике среды или диффузное потемнение среды
	<i>Escherichia coli</i>		Колонии белого цвета на поверхности и в столбике среды
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Колонии белого цвета на поверхности среды
Мод. 3	<i>Clostridia perfringens</i>	На чашках Петри (37±1) °С 24 ч Анаэробные условия	Колонии R-формы черного цвета или белого цвета с черным центром и частичное потемнение среды
	<i>Escherichia coli</i>		Слабый рост в виде мелких колоний белого цвета или отсутствие роста
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Слабый рост в виде мелких колоний белого цвета или отсутствие роста

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Посев и учет результатов при контроле специфической активности производят с соблюдением СП 1.3.2322-08 «безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности (опасности) и возбудителями паразитарных болезней».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру 37±1 °С
- Анаэростат
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные
- Пипетки стеклянные на 1; 2; 5 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 200 и 1000 мл

8. РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Учет результатов проводят визуально через 18-24 ч инкубации.

Потемнение среды или появление черных колоний указывает на наличие сульфитредуцирующих кластридий в исследуемом образце. Следует учитывать, что некоторые представители рода *Salmonella*, восстанавливающие сульфиты до сульфидов, растут на среде анаэробным образом. Но в процессе предварительного прогрева исследуемых образцов, предусмотренного соответствующей нормативной документацией, погибают.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Сульфитный агар необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом, защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности – 2 года со дня изготовления.

Для получения надежных результатов необходимо строго соблюдение настоящей Инструкции по применению.

По вопросам, касающимся качества Сульфитного агара в течение срока годности следует обращаться в адрес предприятия-изготовителя: 142279 Оболеник, Московская обл., Серпуховский р-н, ФГУП «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии», тел. (4967) 36-00-20, факс 36-01-16.

Зам. директора
по научно-производственной работе

А.П. Шенелин А.П. Шенелин

«СОГЛАСОВАНО»

Зам. кафедры КИД ГОУ ДПО «РМАПО»

В.В. Долгов
В.В. Долгов
2009 г.

Подпись: *В.В. Долгов*
Удостоверение: *В.В. Долгов*
на работу в ГОУ ДПО
РМАПО
Серпуховский район, Московская область