

УТВЕРЖДЕНА
Приказом Росздравнадзора
от _____ 200 г. № _____

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор ФГУН
Государственный научный центр
прикладной микробиологии и
биотехнологии

И.А. Дятлов
« ____ » _____ 200 г.

ИНСТРУКЦИЯ

по применению набора реагентов для бактериологических исследований «Питательная среда для культивирования и выделения бифидобактерий сухая» (Бифидум-среда)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Бифидум-среда предназначена для культивирования бифидобактерий при производстве пробиотических препаратов, а также для бактериологических исследований с целью выделения бифидобактерий из клинического материала.

2. ХАРАКТЕРИСТИКА

Бифидум-среда представляет собой мелкодисперсный, гигроскопичный, светочувствительный порошок светло-желтого цвета.

Выпускается в полиэтиленовых банках по 250 г.

2.1. ПРИНЦИП ДЕЙСТВИЯ

Полужидкая среда в сочетании с цистеин гидрохлоридом создают анаэробные условия, а совокупность компонентов, входящих в состав среды, обеспечивает питательные потребности для роста бифидобактерий.

2.2. СОСТАВ

Бифидум-среда представляет собой смесь сухих компонентов из расчета, г/л:

Панкреатический гидролизат казеина.....	30,0
Дрожжевой экстракт	5,0
α -Д-лактоза	2,5
Д-глюкоза	7,5
Цистеина гидрохлорид	0,5

Натрий хлористый	2,5
Магний серноокислый	0,5
Кислота аскорбиновая	0,5
Натрий уксуснокислый	0,3
Агар микробиологический	0,9

3. АНАЛИТИЧЕСКИЕ И ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Питательная среда должна обеспечивать не позднее 72 ч инкубации при температуре (37±1) °С визуально обнаруживаемый рост тест-штаммов *Bifidobacterium breve* ATCC 15701, *Bifidobacterium adolescentis* ATCC 15705, *Bifidobacterium infantis* ATCC 15702, *Bifidobacterium longum* ATCC 15708, *Bifidobacterium bifidum* 1 во всех засеянных пробирках при посеве по 1,0 мл микробной взвеси каждого тест-штамма из разведения 10⁻⁶ и не менее чем в одной (из трех засеянных) пробирке - из разведения 10⁻⁷.

Питательная среда должна обеспечивать дифференциацию по характеру роста тест-штаммов бифидобактерий через 24-72 ч инкубации при температуре (37±1) °С от тест-штаммов *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*.

4. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

При анализе исследуемого материала – соблюдение СП 1.2.731-99 «Безопасность работы с микроорганизмами III-IV группы патогенности и гельминтами».

5. ОБОРУДОВАНИЕ И МАТЕРИАЛЫ

- Термостат, обеспечивающий температуру 37±1 °С
- Весы лабораторные 2 класса точности
- Автоклав
- Пробирки стеклянные
- Пипетки стеклянные позволяющие отбирать объемы жидкости 1 и 2 мл
- Цилиндр стеклянный мерный вместимостью 1000 мл
- Чашки Петри стерильные
- Вода дистиллированная
- Колбы
- Воронки стеклянные

6. АНАЛИЗИРУЕМЫЕ ОБРАЗЦЫ

Объекты исследований в клинической микробиологии.

7. ПРОВЕДЕНИЕ АНАЛИЗА

7.1. Приготовление Бифидум-среды.

50,0 г порошка тщательно размешивают в 1 л воды дистиллированной, кипятят в течение 1 мин, периодически перемешивая, до полного расплавления агара, при необходимости фильтруют, разливают по 9,0 мл в стерильные пробирки и стерилизуют автоклавированием при температуре 112 °С в течение 30 мин.

Готовая к употреблению питательная среда прозрачная, желтого или желтовато-коричневого цвета.

Стерильную среду можно хранить не более 2-х сут при температуре 2-8 °С, перед использованием регенерировать путем нагревания ее в кипящей водяной бане в течение 15-20 мин и последующего охлаждения в холодной воде.

7.2. Выделение бифидобактерий из клинического материала проводят в соответствии с Методическими рекомендациями «Применение бактериальных биологических препаратов в практике лечения больных кишечными инфекциями. Диагностика и лечение дисбактериоза кишечника» (Москва, 1986) и приказом Минздрава СССР от 22.04.85 г., № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений».

7.3. Исследуемый материал вносят в три пробирки, содержащие по 9,0 мл Бифидум-среды, погружая пипетку в середину столбика среды, аккуратно перемешивая пипеткой. Во избежании аэрирования не следует содержимое пипетки выдувать до конца. Через каждые сутки, но не позднее 72 ч инкубации посевов при температуре (37±1) °С визуально определяют наличие и характер роста.

РЕГИСТРАЦИЯ И УЧЕТ РЕЗУЛЬТАТОВ

Бифидобактерии вырастают в Бифидум-среде через 24-72 инкубации при температуре (37±1) °С в виде колоний типа «комет», «гвоздиков», «тяжей», «зерен» различной степени четкости. Рост бифидобактерий подтверждают микроскопически. Бифидобактерии представляют собой грамположительные палочки слегка изогнутые, с разветвлением на одном или двух концах, расположенных в виде буквы V, гантелевидной формы, булавовидными утолщениями или в виде скоплений, напоминающих китайские иероглифы.

При росте в Бифидум-среде кишечной палочки наблюдается диффузное помутнение столбика среды с газообразованием в виде пены; синегнойной палочки - диффузное помутнение верхней части столбика среды с последующим распространением помутнения вниз по среде.

9. УСЛОВИЯ ХРАНЕНИЯ И ЭКСПЛУАТАЦИИ

Бифидум-среду необходимо хранить в герметично закрытой упаковке в сухом защищенном от света месте при температуре от 2 до 30 °С.

Срок годности – 2 года. Среда с истекшим сроком годности использованию не подлежит.

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

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